



**You have downloaded a document from
RE-BUS
repository of the University of Silesia in Katowice**

Title: Ultrastruktura nabłonka jelita środkowego wybranych gatunków dwuparców (Myriapoda, Diplopoda) ze szczególnym uwzględnieniem procesów jego degeneracji oraz regeneracji

Author: Agnieszka Sosinka

Citation style: Sosinka Agnieszka. (2017). Ultrastruktura nabłonka jelita środkowego wybranych gatunków dwuparców (Myriapoda, Diplopoda) ze szczególnym uwzględnieniem procesów jego degeneracji oraz regeneracji. Praca doktorska. Katowice: Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIwersYTET ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

UNIwersytet Śląski
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Katedra Histologii i Embriologii Zwierząt

AGNIESZKA SOSINKA

ULTRASTRUKTURA NABŁONKA JELITA ŚRODKOWEGO WYBRANYCH
GATUNKÓW DWUPARCÓW (MYRIAPODA, DIPLOPODA) ZE SZCZEGÓLNYM
UWZGLĘDNIENIEM PROCESÓW JEGO DEGENERACJI ORAZ REGENERACJI

Część I

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem
DR HAB. PROF. UŚ MAGDALENY ROST-ROSZKOWSKIEJ

KATOWICE 2017

Słowa kluczowe: TEM, śmierć komórkowa, *Archispirostreptus gigas*, *Julus scandinavius*.

Oświadczam, że ww. praca dyplomowa:

została przygotowana przeze mnie samodzielnie,

- nie narusza praw autorskich w rozumieniu ustawy z dnia 4 lutego 1994 r. o prawie,
- autorskim i prawach pokrewnych (tekst jednolity Dz. U. z 2006 r. Nr 90, poz. 631, z późn. zm.) oraz dóbr osobistych chronionych prawem cywilnym,
- nie zawiera danych i informacji, które uzyskałem/łam w sposób niedozwolony,
- nie była podstawą nadania dyplomu uczelni wyższej lub tytułu zawodowego ani mnie, ani innej osobie.

Oświadczam również, że treść pracy dyplomowej zamieszczonej przeze mnie w Archiwum Prac Dyplomowych jest identyczna z treścią zawartą w wydrukowanej wersji pracy. Jestem świadoma odpowiedzialności karnej za złożenie fałszywego oświadczenia.

Data

Podpis autora pracy

Składam najserdeczniejsze podziękowania dla Pani dr hab. prof. UŚ Magdaleny M. Rost-Roszkowskiej za wszechstronną pomoc i cenne wskazówki merytoryczne udzielane mi podczas pisania pracy. Pragnę wyrazić swoją głęboką wdzięczność za okazaną mi wyrozumiałość i cierpliwość.

Dziękuję również wszystkim pracownikom Katedry Histologii i Embriologii Zwierząt za życzliwość i wsparcie, które spotykały mnie na każdym kroku przeprowadzania badań.

Niniejszą pracę pragnę zadedykować moim wspnianiałym Rodzicom, kochanemu Mężowi i Synowi, którzy stale mnie mobilizowali, wspierali i dodawali sił.

SPIS TREŚCI

CZĘŚĆ I

1.	WSTĘP	6
2.	CELE PRACY	12
3.	MATERIAŁ I METODY	13
3.1.	MATERIAŁ BADAŃ	13
3.2.	BIOLOGIA BADANYCH GATUNKÓW	13
3.2.1.	<i>Archispirostreptus gigas</i> Peters 1855	13
3.2.2.	<i>Julus scandinavus</i> Latzel 1884	14
3.3.	WARUNKI HODOWLI	16
3.3.1.	Hodowla gatunku <i>Archispirostreptus gigas</i>	16
3.3.2.	Hodowla gatunku <i>Julus scandinavus</i>	16
3.4.	METODYKA BADAŃ	16
3.4.1.	Mikroskopia świetlna	17
3.4.1.1.	Metody histochemiczne	18
3.4.2.	Mikroskopia fluorescencyjna	19
3.4.2.1.	Reakcja z odczynnikiem DAPI – detekcja położenia jąder komórkowych	20
3.4.2.2.	Barwienie rodaminą sprzężoną z falloidyną – detekcja ułożenia elementów cytoszkieletu aktynowego	20
3.4.2.3.	Reakcja z bromodeoksyurydyną (BrdU) – detekcja komórek proliferujących	21
3.4.2.4.	Reakcja z użyciem przeciwciał przeciwko ufosforylowanej postaci histonu H3 – detekcja komórek regeneracyjnych	22
3.4.2.5.	Reakcja TUNEL – wykrywanie komórek apoptotycznych	22
3.4.3.	Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM)	23
4.	WYNIKI BADAŃ	24
4.1.	BUDOWA, REGENERACJA I DEGENERACJA NABŁONKA JELITA ŚRODKOWEGO <i>ARCHISPIROSTREPTUS GIGAS</i>	24
4.1.1.	Organizacja przewodu pokarmowego <i>Archispirostreptus gigas</i>	24
4.1.2.	Budowa nabłonka jelita środkowego <i>Archispirostreptus gigas</i>	24
4.1.2.1.	Ultrastruktura komórek trawiennych	25
4.1.2.2.	Ultrastruktura komórek regeneracyjnych	28
4.1.2.3.	Ultrastruktura komórek wydzielniczych	29
4.1.3.	Komórki otaczające jelito środkowe <i>Archispirostreptus gigas</i>	31
4.1.3.1.	Ultrastruktura komórek wątrobowych	32
4.1.3.2.	Ultrastruktura hemocytów	32
4.1.4.	Mikroorganizmy w jelicie środkowym <i>Archispirostreptus gigas</i>	33
4.1.5.	Degeneracja jelita środkowego <i>Archispirostreptus gigas</i>	34

4.1.5.1. Autofagia	34
4.1.5.2. Apoptoza	36
4.1.5.3. Nekroza	37
4.2. BUDOWA, REGENERACJA I DEGENERACJA NABŁONKA JELITA ŚRODKOWEGO <i>JULUS SCANDINAVIUS</i>	37
4.2.1. Organizacja układu pokarmowego <i>Julus scandinavus</i>	37
4.2.2. Budowa jelita środkowego <i>Julus scandinavus</i>	38
4.2.2.1. Ultrastruktura komórek trawiennych.....	38
4.2.2.2. Ultrastruktura komórek regeneracyjnych	41
4.2.2.3. Ultrastruktura komórek wydzielniczych.....	43
4.2.3. Komórki otaczające jelito środkowe <i>Julus scandinavus</i>	44
4.2.3.1. Ultrastruktura komórek wątrobowych.....	45
4.2.4. Mikroorganizmy w jelicie środkowym <i>Julus scandinavus</i>	47
4.2.5. Degeneracja w jelicie środkowym <i>Julus scandinavus</i>	47
4.2.5.1. Autofagia	47
4.2.5.2. Apoptoza	49
4.2.5.3. Nekroza	50
5. DYSKUSJA	51
5.1. STRUKTURA UKŁADU POKARMOWEGO WIJÓW	51
5.2. BUDOWA HISTOLOGICZNA JELITA ŚRODKOWEGO	58
5.2.1. Ultrastruktura i funkcje komórek trawiennych.....	62
5.2.2. Ultrastruktura komórek regeneracyjnych i przebieg procesu regeneracji	71
5.2.3. Ultrastruktura komórek wydzielniczych.....	74
5.2.4. Komórki otaczające nabłonek i ich udział w prawidłowym funkcjonowaniu jelita środkowego	76
5.3. MIKROORGANIZMY W JELICIE ŚRODKOWYM.....	80
5.4. PROCESY DEGENERACJI W JELICIE ŚRODKOWYM	83
5.4.1. Autofagia	84
5.4.2. Apoptoza	90
5.4.3. Nekroza	94
6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI	98
7. STRESZCZENIE	100
8. BIBLIOGRAFIA	102
<i>Część II</i>	
9. RYCINY I ICH OPISY	138
10. FOTOGRAFIE I ICH OPISY	143

1. WSTĘP

Wije (Myriapoda) to w większości lądowe organizmy należące do tchawkowców (Tracheata). Dotychczas opisanych zostało 15000 różnych gatunków wijów (Adis i in. 2002, Kelcey 2015) i wciąż odkrywane są nowe gatunki (Akkari i in. 2015, Antić i in. 2015, Frederiksen i Enghoff 2015, Golovatch i Vandenspiege 2015, Qian i in. 2015, Scheller i in. 2015). Wśród wijów wyróżnia się cztery gromady: pareczniki (Chilopoda), drobnonogi (Symphyla), skąponogi (Paupoda) i dwuparce (Diplopoda). Wszystkie posiadają segmentowane ciało, zbudowane z głowy i tułowia. Charakteryzują się wydłużonym pokrojem ciała, cylindrycznym w przekroju lub spłaszczonym grzbieto-brzusznie. Segmenty ciała są w znacznej mierze homonomiczne, zazwyczaj zaopatrzone w jedną, bądź dwie pary, członowanych odnóży krocnych. Ostatni segment ciała, telson, przeważnie nie zawiera odnóży. Poszczególne gatunki wijów znacznie różnią się długością ciała. Występują organizmy o długości nieprzekraczającej 1 mm, jak również, szczególnie w strefach tropikalnych, zwierzęta osiągające ponad 300 mm (Jura 2004, Błaszak 2012).

Wije najliczniej występują w strefach klimatu umiarkowanego i ciepłego, zazwyczaj w wilgotnych środowiskach takich ekosystemów jak lasy czy łąki. Niektóre gatunki przystosowały się do życia w miejscach zamieszkania człowieka i na terenach związanych z jego działalnością, to znaczy występują w parkach, ogrodach, szklarniach czy na polach uprawnych (Kania 2011, Vilisics i in. 2012). Niektóre wije występują w strefach przybrzeżnych zbiorników wodnych, stanowiąc faunę litoralu (Barber 2009). Znane są również wije występujące w bardziej suchych środowiskach, takich jak tereny półpustynne, a nawet pustynie (Crawford 1979, Crawford i in. 1987). Niezależnie od miejsca występowania wije preferują skryty tryb życia, chowając się w wydrążonych w glebie kanałach, w ściółce, pod kamieniami czy pod korą drzew.

Wije prezentują różne sposoby odżywiania. Należą tu organizmy zjadające pokarm pochodzenia roślinnego, czyli fitofagi, jak również odżywiające się pokarmem pochodzenia zwierzęcego – zoofagi. Wije roślinożerne odżywiają się żywymi tkankami roślin, zwłaszcza korzeniami roślin telomowych, a część z nich, szczególnie należących do drobnonogów i dwuparców, uważana jest za poważne szkodniki roślin uprawnych (Alagesan i Ganga 1989). Występujące wśród wijów drapieżniki to przede wszystkim pareczniki oraz nieliczne dwuparce i skąponogi. Polują na różne gatunki stawonogów, zarówno na postaci imago, jak i na ich larwy, a duże i szybkie gatunki egzotycznych

pareczników, nawet na drobne kręgowce (Jura 2004, Lewis i in. 2010). Część wijów, zwłaszcza należących do dwuparców, drobnonogów, czy skąponogów to saprofagi, odżywiające się martwymi szczątkami zwierząt i/lub roślin, w różnym stopniu rozkładu.

Bez względu na rodzaj pobieranego pokarmu układ pokarmowy wszystkich przedstawicieli wijów wykazuje pewne cechy wspólne. Zaczyna się otworem gębowym umieszczonym po spodniej stronie głowy, a kończy otworem odbytowym położonym z tyłu ciała. Składa się z trzech odcinków: jelita przedniego, środkowego i tylnego. Pomiędzy jelitem środkowym a tylnym znajduje się ujście cewek Malpighiego, odpowiedzialnych za wydalanie zbędnych związków azotowych i biorących udział w zachowaniu homeostazy organizmu. Istnieje jednak wiele różnic w budowie morfologicznej układów pokarmowych przedstawicieli poszczególnych grup wijów, a nawet poszczególnych gatunków, pobierających podobny lub różny rodzaj pokarmu (Sosinka i in. 2014).

Organizmy będące przedmiotem badań tej pracy, należą do dwuparców (Diplopoda), zwanych również krocionogami. Jest to najliczniejsza grupa wijów pod względem występujących gatunków. Opisano ponad 12 000 gatunków, zebranych w 145 rodzin i 16 rzędów, jednak szacuje się, iż na ziemi może występować od 15 000 do nawet 80 000 gatunków dwuparców (Hoffman i in. 2002, Shelley 2002, Sierwald i Bond 2007, Golovatch i Kime 2009, Mora i in. 2011, Brewer i in. 2012, Alagesan 2016). Tak duża różnorodność gatunkowa daje dwuparcom trzecie miejsce pod względem ilości gatunków wśród wszystkich grup stawonogów, tuż za owadami i pajęczakami (Shelley 2007). Stanowią one także jedną z najstarszych grup zwierząt lądowych; prace archeologiczne wskazują, iż pierwsze organizmy przypominające formą współczesne dwuparce mogły występować już w ordowiku (Johnson i in. 1994, Retallack 2000, 2001), a dobrze zachowane okazy kopalne krocionogów pochodzą z syluru i dewonu (Wilson i Anderson 2004, Wilson 2006, Selden i Read 2008, Shear i Edgecombe 2010). Obecnie krocionogi są organizmami kosmopolitycznymi, zamieszkującymi prawie wszystkie strefy klimatyczne i lądowe biotopy, takie jak łąki, sawanny, stepy, zbiorowiska leśne i krzewiaste, góry, jaskinie (Hamer i in. 2006, Golovatch i Kime 2009). Nie zasiedlają jedynie terenów antarktycznych, suchych i zimnych obszarów koła podbiegunowego, gdzie dochodzi do wieloletniego utrzymywania się temperatury powierzchniowych warstw ziemi poniżej punktu zamarzania wody. Bardzo ważnym elementem siedliska dwuparców jest gleba, a zmarznięta i twarda powierzchnia ziemi uniemożliwia wydrążenie kanałów w glebie, w

celu schronienia przed drapieżnikami, składania jaj, czy przetrwania niekorzystnych warunków pogodowych. Poza glebą dwuparce występują również w ściółce leśnej, martwym drewnie, pomiędzy trawami, a część gatunków odbywa masowe wędrówki. Najliczniej występują w lasach, zwłaszcza w wilgotnych lasach klimatu umiarkowanego, subtropikalnego i tropikalnego, gdzie panują korzystne warunki środowiskowe, takie jak wysoka wilgotność, miejsce do schronienia czy mnogość pożywienia. Odpowiednie warunki do rozwoju krocionogów występują także w środowiskach silnie zmienionych przez człowieka, takich jak kompostowniki, oborniki, sady i inne miejsca uprawy roślin, stąd wiele gatunków dwuparców uznaje się za synantropijne (Manu i in. 2015). Jednakże niektóre krocionogi spotykane są przez badaczy w środowiskach, wydawałoby się bardziej nieprzyjaznych wujom (Hopkin i Read 1992, Beron 2008, Golovatch i Kime 2009), na przykład: w wysokich górach, nawet powyżej wysokości 4000 m n.p.m.; na plażach morskich oraz pod skałami przybrzeżnymi, znosząc duże zasolenie środowiska; na terenach zalewowych zbiorników słodkowodnych, potrafiąc przeżyć okres zanurzenia w wodzie przez kilka tygodni czy nawet miesięcy (Adis 1986, Adis i in. 1998); na terenach pustynnych, radząc sobie z niską wilgotnością powietrza i gleby oraz z dużą amplitudą temperatury.

Ciało dwuparców składa się ze stosunkowo niewielkiej głowy, osadzonej na cylindrycznie wydłużonym tułowiu. Na głowie, oprócz krótkich siedmio- lub ośmioczłonowych czulek mogą występować inne elementy sensoryczne w postaci narządu Tömösváry'ego czy oczu. Otwór gębowy otoczony jest przez twarde fałd (lambium), człony rozbudowanych żuwaczek wraz z zębami oraz duże szczęki pierwszej pary, tworzące gnatochilarium (Jura 2004). Cechą charakterystyczną dwuparców, znacząco odróżniającą je od pozostałych wujów, jest budowa tułowia. Składa się on w większości z połączonych teleskopowo diplosegmentów. Diplosegmenty powstały na wskutek zlania się dwóch segmentów przedpierścienia (protosomit) i zapierścienia (metasomit). Każdy diplosegment dwuparca, zaopatrzony jest w dwie pary odnóży. Telson jest miejscem, gdzie znajduje się otwór odbytowy, który często bywa otoczony przez płyty analne otwierające się podczas defekacji (Hopkin i Read 1992).

Preferencje żywieniowe dwuparców są zróżnicowane. Wśród krocionogów przeważają gatunki roślinożerne i detrytusożerne, rzadziej występują dwuparce wszystkożerne. W diecie krocionogów, będących fitofagami, mogą występować algi, grzyby oraz nasiona, kwiaty, pędy i korzenie roślin (Baker 1974, Kuèhnelt 1979,

Eisenbeis i Wichard 1987, Hopkin i Read 1992). Znacząca większość krocionogów odżywia się martwą materią organiczną pochodzenia roślinnego i/lub zwierzęcego. Wśród dwuparców często występuje zjawisko koprofagii, wraz ze zjadaniem własnych wylinek (Hopkin i Read 1992). Nieliczne gatunki krocionogów są mięsożerne (Srivastava i Srivastava 1967).

Część dwuparców, szczególnie podczas masowych wystąpień, jest uważana za niepożądane organizmy, gdyż żywiąc się korzeniami roślin uprawnych – powodują straty w plonach, lub występując w miastach – wkracza do obiektów zamieszkałych przez ludzi (Kania i Kłapeć 2012). Jednak większość krocionogów w naturalnych ekosystemach spełnia ważną rolę środowiskową. Drażąc tunele i korytarze w glebie, spulchniają ziemię i przyczyniają się do jej napowietrzenia, jak również odpowiedniego nawodnienia. Niepodważalnie ważną funkcją wijów, w szczególności dwuparców jest ich udział w procesie formowania gleby i jej użyźniania. Odżywiając się martwą materią organiczną rozdrabniają szczątki tkanek zwierzęcych czy roślinnych, co stymuluje procesy biodegradacji mikrobiologicznej, zachodzące przy udziale bakterii i grzybów (Lavelle i Spain 2001, Alagesan 2016). Przyspieszają tym samym powstawanie próchnicy, mineralizację gleby oraz obrót ważnych pierwiastków w danym ekosystemie (Curry 1994, Ashwini i Sridhar 2002, Coleman i in. 2004, Toyota i in. 2006).

Sposób odżywiania, jak również miejsce występowania makrofauny glebowej w szczególności saprofagów, sprawiły, iż stały się one obiektem zainteresowań badań toksykologicznych w celu określenia ich przydatności w oznaczaniu występujących w glebie substancji szkodliwych, takich jak metale ciężkie, pestycydy, pierwiastki promieniotwórcze czy węglowodory aromatyczne (Fontanetti i in. 2011). Ściółka czy powierzchniowe warstwy gleby są bowiem miejscem, gdzie odkładają się znaczne ilości substancji toksycznych, a występujące w niej organizmy są nieustannie narażone na działanie dużego stężenia zanieczyszczeń (Köhler i in. 1995). Prace naukowe dotyczące wpływu substancji szkodliwych na zwierzęta najczęściej przeprowadzane zostają na tkankach i narządach, które wykazują zdolności akumulacji i detoksykacji substancji toksycznych. Wśród zwierzęcych tkanek, posiadających takie zdolności, jest niewątpliwie pozbawione kutikuli, endodermalne jelito środkowe, gdyż stanowi pierwszą i najważniejszą barierę ochronną dla całego organizmu (Köhler i Alberti 1992, Migula 1993, Rost-Roszkowska 2008b, Rost-Roszkowska i in. 2010f, Nogarol i Fontanetti 2011). Pełni podstawową rolę w zabezpieczeniu utraty homeostazy, która

mogłaby nastąpić poprzez проникnięcie patogenów czy substancji toksycznych ze zjadanego pożywienia, szczególnie w zanieczyszczonym środowisku. Jelito środkowe pozostaje również głównym obiektem badań toksykologicznych prowadzonych przy udziale wijów (Köhler i Alberti 1992, Köhler i in. 1995, Camargo-Mathias i Fontanetti 2000, Nakamura i in. 2005, Nogarol i Fontanetti 2010, 2011, Perez i Fontanetti 2011). Substancje szkodliwe, takie jak metale ciężkie, zostają zmagazynowane i zneutralizowane na terenie nabłonka jelita środkowego tych organizmów w postaci sferytów. Niektóre gatunki wijów uznane zostały zatem za dobre bioindykatory stanu środowiska (Hopkin i in. 1985, de Godoy i Fontanetti 2010, Fontanetti i in. 2011, Bozzatto i Fontanetti 2012, de Souza i Fontanetti 2012, da Silva Souza i in. 2014, Alagesan 2016, Christofolletti i in. 2016). Badanie zakumulowanych substancji toksycznych w ich organizmach oraz zmian budowy morfologicznej przez nie wywołanych, daje możliwość oceny jakości środowiska, stopnia ewentualnego jego skażenia, wpływu zanieczyszczenia środowiska na organizmy żywe czy zmian środowiskowych wywołanych obecnością szkodliwych substancji.

W ostatnich kilkudziesięciu latach znacząco powiększyła się wiedza na temat zmian w organach i tkankach wijów zachodzących pod wpływem ekspozycji na działanie zanieczyszczeń środowiska (Hopkin i Martin 1983, 1984, Hopkin i in. 1985, Köhler i Alberti 1992, Köhler i in. 1995, Vandenbulcke i in. 1998a, b, Camargo-Mathias i Fontanetti 2000, Köhler 2002, Bozzatto i Fontanetti 2012, Nogarol i Fontanetti 2010, 2011, Fontanetti i in. 2010, Perez i Fontanetti 2011, da Silva Souza i in. 2011, 2014, Christofolletti i in. 2016), głównie metali ciężkich. Przeprowadzane badania histochemiczne, histologiczne i ultrastrukturalne zaczynają rozszerzać wiedzę na temat wpływu substancji toksycznych na budowę komórek tworzących i otaczających jelito środkowe. Ważnym aspektem zdaje się być zatem poznanie fizjologicznej budowy jelita środkowego wijów z uwzględnieniem ultrastruktury komórek go tworzących oraz wnikliwe zbadanie zachodzących w jego obszarze procesów, warunkujących prawidłowe funkcjonowanie organizmu. Wiedza na ten temat stale się powiększa, poprzez wnikliwe analizy nabłonka jelita środkowego, w tym histochemiczne i ultrastrukturalne, coraz większej liczby gatunków wijów (Bowen 1968b, Nunez i Crawford 1977, Hubert 1979b, 1988, Fontanetti i Camargo-Mathias 1997, Fontanetti i in. 2001, Fantazzini i in. 2002, Camargo-Mathias i in. 2004, Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Moreira-de-Sousa i in. 2016).

Układ pokarmowy stawonogów stanowi również ciekawy obiekt badań ze względu na fizjologiczne procesy w nim zachodzące. Wśród nich należy wymienić trawienie związków pokarmowych, absorpcję i magazynowanie substancji odżywczych, degenerację uszkodzonych komórek oraz regenerację tej tkanki. Za procesy regeneracyjne, prowadzące do odtworzenia puli funkcjonalnych komórek budujących dany narząd odpowiedzialne są komórki macierzyste, stanowiące rezerwuár komórek zdolnych do proliferacji (Hakim i in. 2001, 2010, Poss 2010, Tanaka i Reddien 2011, Takashima i in. 2013). W jelicie środkowym wijów za odnowę nabłonka odpowiedzialne są komórki regeneracyjne, które częściej były opisywane u krocionogów (Hopkin i Read 1992, Fontanetti i in. 2001, Fantazzini i in. 2002, Camargo-Mathias i in. 2004, de Godoy i Fontanetti 2010, Nogarol i Fontanetti 2011, Sosinka i in. 2014, Moreira-de-Sousa i in. 2016) niż u pozostałych grup wijów (Koch i in. 2011, Chajec i in. 2012, 2014). Drugim ważnym procesem pomagającym zachować homeostazę organizmu jest degeneracja. Degeneracja komórek nabłonka jelita środkowego może być wynikiem nieprawidłowego ich funkcjonowania, zaangażowania w detoksykację organizmu, mechanicznego uszkodzenia czy odpowiedzią obronną na próby infekcji patogenami. W jelicie środkowym bezkręgowców stwierdzono trzy typy śmierci komórkowej: apoptozę, nekrozę i autofagię (Bowen 1968a, Vaidyanathan i Scott 2006, Tettamanti i in. 2007, Rost-Roszkowska 2008a, b, Rost-Roszkowska i in. 2008a, b, 2010a, c, d, e, f, 2012, 2013, 2015a, b, 2016a, Hakim i in. 2010, Malagoli i in. 2010, Franzetti i in. 2012, Chajec 2012, Zhang i Hua 2014, Kszuk-Jendrysik 2015, Bednarska i in. 2016, Sonakowska i in. 2016). Dotychczasowe prace naukowe rzadko opisują degenerację jelita środkowego wijów, więc procesy śmierci komórkowej wśród tej grupy stawonogów pozostają jeszcze słabo poznane.

2. CELE PRACY

Podstawowe cele niniejszej pracy przedstawiają się następująco:

- opisanie ogólnej struktury i budowy morfologicznej jelita środkowego dwóch gatunków dwuparców: egzotycznego *Archispirostreptus gigas* oraz rodzimego *Julus scandinavius*,
- szczegółowe poznanie ultrastruktury wszystkich typów komórek tworzących nabłonek jelita środkowego obu analizowanych gatunków,
- pozyskanie informacji dotyczących procesów zachodzących na terenie nabłonka jelita środkowego obu badanych gatunków, w szczególności przebiegu procesów regeneracji i różnicowania się komórek nabłonka oraz ich degeneracji,
- sklasyfikowanie typów śmierci komórkowej występujących na terenie nabłonka jelita środkowego przedstawicieli badanych dwuparców poprzez przedstawienie zmian w utrastrukturze komórek, w których zachodzą procesy degeneracji.

3. MATERIAŁ I METODY

3.1. Materiał badań

Materiał do badań stanowiły osobniki dorosłe i juvenilne dwóch gatunków wijów (Myriapoda) z gromady dwuparców (Diplopoda): Krocionóg olbrzymi, *Archispirostreptus gigas* Peters 1855 (Fot. 1A, 1C, 1D) oraz *Julus scandinavicus* Latzel 1884 (Fot. 1B). Wybrane gatunki należą do infragromady Helmintomorpha, zrzeszającej większość dwuparców oraz do wspólnego nadrzędu Juliformia (Hopkin i Read 1992), który skupia osobniki o wydłużonym, cylindrycznym kształcie ciała z dużą ilością diplosegmentów. Ciało osobników otacza, zawierająca sole wapnia, trójwarstwowa kutikula, która zbudowana jest ze sklerytów, połączonych w jeden pierścień (Blower 1985, Minelli 2015). Elementy budowy ciała, takie jak szeroka głowa, duża ilość odnóży oraz twardy oskórek, sprawiają, iż dwuparce te są doskonale przystosowane do rycia korytarzy w powierzchniowych warstwach gleby (Manton 1977, Hopkin i Read 1992, Golovatch i Kime 2009). Charakterystyczne jest także zachowanie tych zwierząt w sytuacjach zagrożenia. Zaniepokojone zwijają ciało spiralnie (Fot. 1C) i nieruchomieją. Mechanizmem obronnym jest również wydzielanie płynu o nieprzyjemnym, ostrym zapachu, zawierającym między innymi benzochinony i benzonitryl przez gruczoły, których ujście znajduje się po obu stronach w różnych obszarach ciała (Hopkin i Read 1992, Makarov i in. 2010, Šustr i in. 2013, Kania i in. 2016).

Wybrane do badań gatunki wyróżnia łatwość pozyskania osobników oraz prowadzenia hodowli. Osobniki obu płci z gatunku *A. gigas*, wykazujące prawidłowe funkcje życiowe, bez widocznych zmian chorobowych, były pozyskiwane w sposób komercyjny z hurtowni zwierząt (Animals Live, Świętochłowice, Polska). Osobniki obu płci z gatunku *J. scandinavicus* były odławiane z naturalnych siedlisk na terenie Parku Narodowego "Podyje" w Republice Czeskiej. Następnie prowadzono hodowlę pozyskanych okazów w warunkach laboratoryjnych.

3.2. Biologia badanych gatunków

3.2.1. *Archispirostreptus gigas* Peters 1855

A. gigas należy do rodziny Spirostreptidae, w obrębie rzędu Spirostreptida, w którym występują największe współcześnie żyjące dwuparce (Hopkin i Read 1992).

A. gigas jest dużym, wolno poruszającym się mieszkańcem dna lasów Afryki Wschodniej (Damsgaard i in. 2013). Występuje najczęściej na zalesionych terenach nizinnych oraz strefach przybrzeżnych Somalii, Kenii, Tanzanii, Mozambiku i RPA oraz na Zanzibarze (Hoffman 2000, Mwabvu i in. 2010).

A. gigas preferuje środowisko wilgotne z dużą ilością roślin i zazwyczaj, jak większość wijów (Koilaraj i in. 2000, Tuf i in. 2006), wykazuje nocną aktywność życia. Znany jest również z siedlisk bardziej suchych takich jak zalesione tereny nabrzeżne czy nawet sawanny. Występuje pod kamieniami, w ściółce lasu, jak również kopie korytarze w powierzchniowych warstwach gleby (Hembree 2009, Šustr i in. 2013).

Preferencje żywieniowe *A. gigas* zmieniają się, podobnie jak u innych dwuparców (Kheirallah 1979b), w zależności od warunków środowiskowych. W środowisku naturalnym odżywia się głównie rozkładającymi się tkankami roślinnymi pochodzącymi z owoców i liści. Może spożywać także inne rodzaje pokarmu włączając martwą tkankę zwierzęcą (Šustr i in. 2013). Na sawannach podczas trwania pory deszczowej odżywia się zwłaszcza martwą materią organiczną pochodzenia roślinnego i ściółką, natomiast w pozostałych, bardziej suchych okresach włącza do diety pokarm roślinny w postaci sadzonek drzew lub innych roślin telomowych, w tym także uprawnych (Dangerfield i Telford 1996, UNEP 1998).

Ciało dorosłego osobnika *A. gigas* może osiągać długość do 260 mm - 300 mm i średnicę do około 20 mm (Enghoff 1992, Makarieva i in. 2005, Mwabvu i in. 2010, Šustr i in. 2013). Posiada gruby i gładki oskórek barwy ciemno brązowej lub czarnej, a na głowie, u podstawy czułek zlokalizowane są oczy (Fot 1D), składające się z kilkudziesięciu oczek (Harzsch i in. 2007). Długość życia osobników w niewoli wynosi od 5 do 7 lat, natomiast dojrzałość płciową osiągają zwykle po 4 latach od momentu wyklucia się. Płeć osobników jest łatwo rozpoznawalna, gdyż osobniki płci męskiej posiadają przekształcone odnóże siódmego segmentu ciała w gonopody, przy czym gonopody wytworzone z przedniej pary odnóży pełnią główną rolę w procesie przenoszenia nasienia (Hopkin i Read 1992).

3.2.2. *Julus scandinavus* Latzel 1884

J. scandinavus jest przedstawicielem rodziny Julidae (krocionogowate, julusy), która należy do rzędu Julida. Dwuparce z tego rzędu, występują głównie w strefach klimatu umiarkowanego (Hopkin i Read 1992). *J. scandinavus* jest gatunkiem eurytopowym, spotykanym na terenach większości krajów zachodnio- i

środkowoeuropejskich (Barlow 1957, Jędrzykowski 1982, Kime 2004), został także introdukowany do Stanów Zjednoczonych (Jeekel 1973). Związany jest szczególnie z obszarami leśnymi, jednak występuje także w innych środowiskach, charakteryzujących się różnym stopniem uwilgotnienia – łąki, wrzosowiska, wydmy, mokradła (Corbet 1997, Hauser i Voigtländer 2009, Voigtländer 2011). *J. scandinavicus* posiada szerokie spektrum wrażliwości na zmiany wilgotności środowiska, w którym żyje (Barlow 1957).

Osobniki tego gatunku występują głównie w ściółce oraz pomiędzy ściółką a organiczno-mineralną warstwą gleby w lasach liściastych i mieszanych (Miller 1974, Kheirallah 1979a, b, Jędrzykowski 1982). Preferują nocny, skryty tryb życia, często chowają się pod kamieniami. W cyklu rocznym można wyróżnić dwie pory wzmożonej aktywności tych wijów, przypadające na miesiące wiosenne i jesienne. Zimą zakopują się w powierzchniowych warstwach gleby (Barlow 1957). Odżywiają się martwą materią organiczną pochodzenia roślinnego dekomponowaną w ściółce, głównie liśćmi takich gatunków drzew jak dąb, buk, jawor, jesion (Miller 1974, Hopkin i Read 1992, Ashili i in. 2007). Preferencje żywieniowe tych zwierząt zmieniają się w zależności od stopnia rozłożenia i gatunku liści (Kheirallah 1979a).

J. scandinavicus to średniej wielkości krocionóg, który może osiągać długość około 22,5-26,5 mm i szerokość 1,4-2,7 mm (Blower 1985). Posiada wydłużone, walcowate ciało, okryte twardym oskórkiem w kolorze czarnobrazowym (Fot. 1B) lub brązowożółtym z ciemnym pasem grzbietowym. Osobniki juwenilne zazwyczaj są jaśniejszej barwy i posiadają wyraźnie widoczne, ciemnobrązowe ujścia gruczołów obronnych po bokach ciała. Przednie części diplosegmentów są gładkie, natomiast tylnie karbowane. Na głowie znajdują się pola oczne. Ostatni segment ciała, telson, posiada sierpowaty wyrostek. Krocionóg ten charakteryzuje się euanamorficznym rozwojem pozazarodkowym, co oznacza, że podczas każdego linienia przybywają kolejne segmenty ciała (Enghoff i in. 1993). Dojrzałość płciową osiąga po trzech latach od momentu wyklucia się (Blower 1985). Rozróżnienie płci możliwe jest od drugiego roku życia tych zwierząt, gdyż wtedy wykształcają się gonopody z odnóży siódmego segmentu ciała u przedstawicieli płci męskiej.

3.3. Warunki hodowli

Wykorzystywane do badań zwierzęta hodowane były w Katedrze Histologii i Embriologii Zwierząt Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach.

3.3.1. Hodowla gatunku *Archispirostreptus gigas*

Zakupione komercyjnie osobniki *A. gigas* obu płci hodowano w zamkniętych, szklanych akwariach o wymiarach 60 x 40 x 30 cm, z zachowanym kanałem wentylacyjnym. Podłoże hodowlane stanowiło włókno kokosowe o grubości 12 cm oraz powierzchniowo umieszczone wysuszone liście dębu i buku. W terrarium utrzymywano wysoką wilgotność środowiska (około 70%), poprzez zraszanie podłoża i szybkie akwariarium wodą. Osobniki hodowano w zaciemnionym pomieszczeniu w temperaturze minimum 25°C. Stałym elementem terrarium była sepia, stanowiąca dla zwierząt źródło wapnia. Codziennie dostarczano świeży pokarm w postaci ogórków, pomidorów, jabłek, gruszek, bananów, pieczarek, liści sałaty oraz nawodnionych elementów suchej karmy dla kotów Whiskas Junior, umieszczanych na szklanych szalkach Petriego.

3.3.2. Hodowla gatunku *Julus scandinavius*

Odłowione z naturalnego środowiska osobniki *J. scandinavius* obu płci hodowane były w plastikowych terrariach o wymiarach 20 x 15 x 6 cm z otworami wentylacyjnymi. Hodowlę prowadzono w zaciemnionym pomieszczeniu w temperaturze 22°C przy wilgotności powietrza stanowiącej około 70%. Trzycentymetrowe podłoże stanowiły elementy ściółki pozyskane z naturalnych siedlisk zwierząt oraz niewielkie ilości wilgotnej ziemi ogrodowej. Dodatkowo wprowadzono suche liście dębu i buku, które wraz z ściółką funkcjonowały jako pokarm dla hodowanych dwuparców.

3.4. Metodyka badań

Badania przeprowadzono z użyciem materiału biologicznego, pochodzącego łącznie od 20 osobników *A. gigas* (8 samców i 12 samic) i od 40 osobników *J. scandinavius* (17 samców i 23 samice). Materiał pochodzący od badanych gatunków został wyizolowany z osobników obu płci. Osobniki najpierw usypiano przy użyciu chloroformu, a następnie uśmiercano poprzez dekapitację. Sekcję przeprowadzano na lodzie w klimatyzowanym pomieszczeniu w temperaturze 16°C. Podczas preparowania

materiał traktowano 2,5% roztworem aldehydu glutarowego w 0,1 molowym buforze fosforanowym o pH 7,4, poprzez bezpośrednie nakrapianie na sekcjonowaną tkankę.

Wyizolowane układy pokarmowe obu badanych gatunków dwuparców obserwowano pod mikroskopem stereoskopowym Olympus SZX16 i fragmentowano w celu pozyskania jelita środkowego.

Analizę nabłonka jelita środkowego na poziomie ultrastrukturalnym oraz zachodzących w jego obrębie procesów regeneracji i degeneracji przeprowadzano za pomocą różnych metod badawczych. Wykorzystano niżej przedstawione techniki, stosowane w mikroskopii świetlnej, fluorescencyjnej oraz transmisyjnej mikroskopii elektronowej.

3.4.1. Mikroskopia świetlna

Wypreparowane podczas sekcji fragmenty jelita środkowego wszystkich badanych osobników (20 osobników *A. gigas*, 40 osobników *J. scandinavius*) natychmiast umieszczano w 2,5% roztworze aldehydu glutarowego w 0,1 molowym buforze fosforanowym o pH 7,4 i utrwalano przez 2 godziny w temperaturze 4°C. Następnie materiał kilkakrotnie płukano w 0,1 molowym buforze fosforanowym o pH 7,4 i poddawano postfiksacji w 2% roztworze czterotlenku osmu w 0,1 molowym buforze fosforanowym (pH 7,4) przez 1,5 godziny w temperaturze 4°C. Materiał po utrwalaniu wtórnym, czterokrotnie płukano w buforze fosforanowym, zmieniając bufor co 20 minut. Następnie odwadniano w temperaturze pokojowej w roztworach alkoholu etylowego o wzrastających stężeniach: 30%, 50%, 70%, 90% i 96%, traktując materiał przez 15 minut w każdym z nich oraz w 100% alkoholu etylowym 4 razy po 15 minut. Dehydratację kontynuowano z wykorzystaniem acetonu, inkubując materiał dwa razy po 15 minut, po czym tkankę przepajano mieszaną acetonu i żywicy epoksydowej przez 12 godzin. Tak przygotowany materiał zatapiano w żywicy epoksydowej Epoxy Embedding Medium Kit (Sigma, St. Louis, MO) i umieszczano w cieplarni w temperaturze 55°C, w celu polimeryzacji żywicy.

Powstałe bloczki epoksydowe, zawierające materiał przeznaczony do analizy w mikroskopie świetlnym, krojono na półcienkie skrawki o grubości 0,8 µm przy użyciu szklanych noży i ultramikrotomu LKB Ultramikrotome 4. Materiał wybarwiano stosując 1% błękit metylenowy w 0,5% boraksie i analizowano w mikroskopie świetlnym Olympus BX60, zintegrowanym z kamerą cyfrową OLYMPUS X650 oraz programem komputerowym cellSens Standard.

3.4.1.1. Metody histochemiczne

Badania histochemiczne nabłonka jelita środkowego obu gatunków przeprowadzono z użyciem utrwalonego materiału (pochodzącego od 20 osobników *A. gigas* i 40 osobników *J. scandinavius*) w postaci skrawków epoksydowych o grubości 0,8 μm , uzyskanych według wyżej opisanej procedury (rozdział 3.4.1) oraz z wykorzystaniem nieutrwalonej chemicznie tkanki (pochodzącej od 8 osobników *A. gigas* i 19 osobników *J. scandinavius*) w postaci skrawków mrozeniowych (rozdział 3.4.2). Po wykonaniu przedstawionych poniżej reakcji histochemicznych, materiał analizowano w mikroskopie świetlnym Olympus BX60 i fotografowano przy pomocy kamery cyfrowej OLYMPUS X650 oraz programu komputerowego cellSens Standard.

3.4.1.1.1. Reakcja z błękitem rtęciowo-bromofenolowym – wykrywanie białek

Półcienkie skrawki epoksydowe traktowano kwasem nadjodowym o stężeniu 1% przez 10 minut w temperaturze pokojowej, w celu usunięcia osmu z tkanki. Następnie materiał płukano w bieżącej wodzie, po czym umieszczano w zaciemnionej kamerze, wypełnionej błękitem rtęciowo-bromofenolowym i barwiono przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Po upływie wskazanego czasu skrawki płukano w bieżącej wodzie przez 35 minut, suszono i zamykano w medium DPX (Fluka). W pozytywnym wyniku reakcji obserwowano w mikroskopie świetlnym wybarwione na kolor niebieski białka.

3.4.1.1.2. Reakcja PAS – wykrywanie polisacharydów obojętnych

Uzyskane skrawki epoksydowe poddawano działaniu 2% roztworu kwasu nadjodowego przez 10 minut w temperaturze pokojowej. Przepłukiwano kilka sekund 70% alkoholem etylowym i traktowano mieszaniną redukcyjną, przygotowaną z 1g KI, 1g Na₂S₂O₃, 30 ml 95% C₂H₅OH, 20 ml H₂O, 0,5 ml 2N HCl, przez 1 minutę. Ponownie przepłukiwano roztworem etanolu o stężeniu 70% i barwiono w zaciemnionej kamerze, wypełnionej odczynnikiem Schiff'a przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Po wypłukaniu skrawków w bieżącej wodzie i wysuszeniu ich, materiał zamykano z użyciem medium DPX (Fluka).

Podczas analizy w mikroskopie świetlnym obserwowano w materiale wybarwione na kolor malinowo-czerwony polisacharydy obojętne.

3.4.1.1.3. Reakcja z Sudanem czarnym B – wykrywanie lipidów

Skrawki epoksydowe poddawano działaniu roztworu Sudanu czarnego B o stężeniu 0,3% przez 20 minut w temperaturze pokojowej. Następnie delikatnie płukano 50% alkoholem etylenowym i wodą destylowaną 4 razy po 5 sekund każdy. Po wysuszeniu skrawków i zamknięciu w medium DPX (Fluka) natychmiast analizowano i fotografowano w mikroskopie świetlnym.

Pozytywny wynik reakcji charakteryzował się ciemnoszarym, ciemnobrunatnym lub czarnym zabarwieniem lipidów w tkance.

3.4.1.1.4. Reakcja wykrywająca aktywność fosfatazy kwaśnej

Barwienie przeprowadzono z użyciem skrawków mrożeniowych, na tkance nietraktowanej utrwalaczem chemicznym. Materiał pochodzący od obu gatunków dwuparców (8 osobników *A. gigas*, 19 osobników *J. scandinavicus*) zamrażano w medium Tissue-Tek (Sakura) i krojono przy pomocy kriostatu Tissue-Tek II. Uzyskane w ten sposób skrawki mrożeniowe o grubości 5 µm nakładano na adhezyjne szkiełka podstawowe Super Frost Plus (Menzel-Gläser).

Otrzymane skrawki mrożeniowe przepłukiwano zbuforowanym roztworem soli fizjologicznej (1% PBS, pH 7,4) w celu nawodnienia tkanki. Następnie materiał traktowano 0,1 N buforem octanowym o pH 5,2, po czym trzymano w temperaturze 37°C przez 1,5 godziny w płynie inkubacyjnym, który stanowiła mieszanina 0,1 N buforu octanowego z roztworem fosforanu naftolu AS-BI o stężeniu 0,01%, z roztworem N-N-dimetyloformamidu o stężeniu 2%, z roztworem Fast Red Violet LB o stężeniu 0,06% oraz z 0,5 mM MnCl₂. W dalszej kolejności materiał płukano w 1% roztworze PBS przez 10 minut i zamykano z użyciem gliceryny do fluorescencji (Merck).

Analizowany w mikroskopie świetlnym materiał wykazywał różowoczerwone zabarwienie w miejscach aktywności fosfatazy kwaśnej.

3.4.2. Mikroskopia fluorescencyjna

W celu przygotowania materiału do badań w mikroskopii fluorescencyjnej wykorzystano tkanki pochodzące od 8 osobników *A. gigas* i od 19 osobników *J. scandinavicus*, w tym od 4 osobników *A. gigas* i 12 osobników *J. scandinavicus* nastrzykniętych roztworem bromodeoksyurydyny. Sekcję przeprowadzano na lodzie w pomieszczeniu o temperaturze powietrza 16°C. Zwierzęta usypiano za pomocą

chloroformu, uśmiercano przez dekapitację i szybko izolowano jelito środkowe. Wypreparowane fragmenty jelita środkowego przepłukiwano w roztworze soli fizjologicznej zbuforowanej TRIS (TBS, pH 7,6) i zatapiano w medium zamrażającym Tissue-Tek (Sakura). Następnie materiał krojono na skrawki mrożeniowe o grubości 5 μ m za pomocą metalowych noży przy zastosowaniu kriostatu Tissue-Tek II w temperaturze -22°C i naklejano na adhezyjne szkiełka podstawowe Super Frost Plus (Menzel-Gläser). Uzyskane w ten sposób skrawki mrożeniowe przepłukiwano roztworem TBS przez 5 minut w celu nawodnienia tkanki i barwiono za pomocą opisanych niżej metod, wykorzystywanych w mikroskopii fluorescencyjnej. Następnie materiał zamykano w mieszaninie równych objętości gliceryny do fluorescencji (Merck) i medium The Prolong Gold antifade reagent (Invitrogen).

Wynik przeprowadzonych reakcji analizowano i fotografowano w mikroskopie fluorescencyjnym Olympus BX60 z wykorzystaniem właściwych filtrów, przy użyciu kamery cyfrowej OLYMPUS X650 i oprogramowania komputerowego cellSens Standard.

3.4.2.1. Reakcja z odczynnikiem DAPI – detekcja położenia jąder komórkowych

Otrzymane skrawki mrożeniowe, po uprzednim przepłukaniu w TBS, traktowano 0,1% roztworem 4,6-diamidyno-2-fenylindolu (DAPI, Sigma, St. Louis, MO) w TBS przez 20 minut w temperaturze pokojowej. Barwienie przeprowadzano w całkowitej ciemności. Po upływie wskazanego czasu, skrawki trzykrotnie płukano w TBS przez 5 minut, a następnie zamykano szkiełkami nakrywkowymi z wykorzystaniem gliceryny do fluorescencji.

Podczas analizy w mikroskopie fluorescencyjnym OLYMPUS BX60, po wzbudzeniu odczynnika DAPI promieniowaniem ultrafioletowym, obserwowano niebieski sygnał wybarwionego kwasu deoksyrybonukleinowego.

3.4.2.2. Barwienie rodaminą sprzężoną z falloidyną – detekcja ułożenia elementów cytoszkieletu aktynowego

Sporządzone skrawki mrożeniowe poddawano trzykrotnemu płukaniu w buforze TBS w czasie 15 minut i pozostawiano przez 5 minut w 1% roztworze Triton X-100 (Sigma), przygotowanym na bazie TBS. Następnie materiał traktowano roztworem falloidyny skoniugowanej z rodaminą (Sigma) o stężeniu 0,02% przez 40 minut w temperaturze pokojowej i w całkowitej ciemności. Po zakończeniu barwienia materiał

pięciokrotnie przepłukiwano roztworem TBS w czasie 50 minut, po czym wykonywano barwienie wtórne odczynnikami DAPI, według opisanej wyżej procedury (rozdział 3.4.2.1).

W wyniku reakcji obserwowano w mikroskopie fluorescencyjnym OLYMPUS BX60 czerwony sygnał pokazujący lokalizację cytoszkieletu aktynowego, przy zielonym świetle wzbudzenia, oraz niebieski sygnał wybarwionych jąder komórkowych, przy ultrafioletowym świetle wzbudzenia.

3.4.2.3. Reakcja z bromodeoksyurydyną (BrdU) – detekcja komórek proliferujących

Wizualizację proliferujących komórek przeprowadzono z zastosowaniem 5-bromo-2'-deoksyurydyny (BrdU). Substancja jest syntetycznym analogiem tymidyny i zostaje wbudowana w nici DNA podczas replikacji, poprzedzającej podział komórek regeneracyjnych.

Żywe zwierzęta (4 osobniki *A. gigas* i 12 osobników *J. scandinavicus*) nastrzykiwano roztworem BrdU w TBS w ilości 50 mg BrdU/kg masy ciała (Roche). Po upływie 1 godziny, uśmiercano dwuparce poprzez dekapitację, a następnie postępowano według wyżej przedstawionej procedury przygotowania skrawków mrozeniowych do mikroskopii fluorescencyjnej (rozdział 3.4.2).

Przygotowane skrawki mrozeniowe, po wcześniejszym przepłukaniu w buforze TBS, poddawano działaniu 2N HCl przez 1 godzinę w temperaturze 37°C. Następnie materiał delikatnie przepłukiwano buforem TBS (3 razy po 5 minut) i traktowano przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej roztworem, zawierającym przeciwciało anti-BrdU sprzężone z fluoresceiną (Anti-Bromodeoxyuridine-Fluorescein, Roche), zmieszane w stosunku objętościowym 1:100 z 0,1% roztworem BSA w TBS. Wybarwiony materiał dwukrotnie przepłukiwano roztworem TBS w czasie 10 minut i barwiono wtórnie odczynnikami DAPI, według opisanej wyżej metody.

W mikroskopie fluorescencyjnym OLYMPUS BX60 pozytywny wynik reakcji uwidaczniał się poprzez zieloną fluorescencję elementów chromatyny jądrowej proliferujących komórek regeneracyjnych, przy zielonym świetle wzbudzenia, jak również poprzez niebieskie sygnały jąder komórkowych wszystkich komórek występujących w nabłonku jelita środkowego, w świetle ultrafioletowym.

3.4.2.4. Reakcja z użyciem przeciwciał przeciwko ufosforylowanej postaci histonu H3 – detekcja komórek regeneracyjnych

Skrawki mrożeniowe po wcześniejszym przepłukaniu buforem TBS, pozostawiano przez 5 minut w roztworze TBS z Triton X-100 o stężeniu 0,1%, po czym ponownie przepłukiwano buforem TBS. Następnie skrawki traktowano 1% roztworem BSA w TBS przez 30 minut w temperaturze pokojowej i inkubowano przez całą noc z przeciwciałem I-rzędowym (anti-phospho-Histone H3, Millipore), który rozcieńczono w stosunku objętościowym 1:100 z 1% roztworem BSA w TBS. Następnego dnia materiał przepłukiwano roztworem TBS (3 razy po 5 minut) i pozostawiano przez 1 godzinę z przeciwciałem II-rzędowym sprzężonym z fluorochromem Alexa-Fluor (goat anti-rabbit IgG Alexa-Fluor 488, Invitrogen), rozcieńczonym w stosunku objętościowym 1:200 z 1% roztworem BSA w TBS w temperaturze pokojowej i w ciemności. Po upływie wskazanego czasu materiał płukano trzykrotnie po 5 minut w roztworze TBS i wykonywano barwienie wtórne odczynnikami DAPI (1 µg/ml, 20 minut, temperatura pokojowa).

W wyniku przeprowadzonej reakcji, analizowany z użyciem odpowiednich filtrów w mikroskopie fluorescencyjnym OLYMPUS BX60 materiał, wykazywał zielone sygnały ufosforylowanej postaci histonu H3, która jest uważana za biomarker mitozy, oraz niebieskie sygnały jąder komórkowych.

3.4.2.5. Reakcja TUNEL – wykrywanie komórek apoptotycznych

Skrawki mrożeniowe przepłukiwano trzykrotnie po 5 minut roztworem TBS i pozostawiano przez 5 minut w 0,1 % roztworze Triton X-100 w TBS. Następnie traktowano 0,1% roztworem Triton X-100 w 0,1% buforze cytrynianowym przez 2 minuty w temperaturze 4°C, po czym dwukrotnie płukano w roztworze TBS w czasie 10 minut. Następnie materiał wystawiano na działanie mieszaniny reakcyjnej TUNEL (In situ Cell Death Detection Kit, Roche) przez 1 godzinę w temperaturze pokojowej i w ciemności. Po wykonaniu barwienia tkankę dwukrotnie płukano w roztworze TBS po 5 minut i barwiono odczynnikami DAPI (1 µg/ml, 20 minut, temperatura pokojowa).

Pozytywny wynik barwienia przedstawiał się czerwoną fluorescencją jąder komórkowych komórek apoptotycznych, przy zielonym świetle wzbudzenia, oraz niebieską fluorescencją DNA, wzbudzoną promieniowaniem ultrafioletowym.

3.4.3. Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM)

Błoczki epoksydowe, zawierające spreparowaną tkankę pochodzącą od wszystkich badanych osobników (20 osobników *A. gigas*, 40 osobników *J. scandinavius*) przygotowywano zgodnie z procedurą opisaną przy mikroskopii świetlnej (rozdział 3.4.1). Następnie materiał krojono na skrawki ultracienkie o grubości 70 nm przy pomocy mikrotomu Leica Ultracut UCT25, z użyciem noży diamentowych. Uzyskane skrawki umieszczano na siatkach miedzianych i kontrastowano najpierw octanem uranylu (20 minut), a następnie cytrynianem ołowiu (20 minut). Materiał analizowano w transmisyjnym mikroskopie elektronowym Hitachi H500 i fotografowano z użyciem błon negatywowych Kodak Electron Microscope Film 4489.

4. WYNIKI BADAŃ

Przeprowadzone badania, dotyczące budowy i ultrastruktury nabłonka jelita środkowego oraz procesów, zachodzących na jego terenie, wykazały dużo podobieństw u *A. gigas* i *J. scandinavus*. Równocześnie wnikliwa analiza pozwoliła na stwierdzenie wielu różnic, dotyczących szczegółów budowy poszczególnych typów komórek i przebiegu procesów, zachodzących w obrębie nabłonka jelita środkowego badanych gatunków.

4.1. Budowa, regeneracja i degeneracja nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*

4.1.1. Organizacja przewodu pokarmowego *Archispirostreptus gigas*

Układ pokarmowy *A. gigas* (Fot. 2A) stanowi prosta tuba rozciągająca się przez całe ciało osobnika. Zbudowana jest z wąskiego i lejkowatego jelita przedniego, jelita środkowego oraz długiego jelita tylnego. Jelito przednie jest krótkie, stanowi około 12% długości całego układu pokarmowego; uchodzą do niego gruczoły ślinowe. Oddzielone jest od jelita środkowego niewielką zastawką kardialną (Fot. 2B). Jelito środkowe występuje w przedniej części ciała osobnika i stanowi około 27% długości całego układu pokarmowego. Jest silnie rozszerzone w stosunku do jelita przedniego. Odcinek pyloryczny oddzielający jelito środkowe od tylnego odznacza się lekkim rozdęciem (Fot. 2A, 2C) i jest wyraźnie widoczny. Jelito tylne jest najdłuższym odcinkiem układu pokarmowego badanego gatunku, silnie rozszerzonym i zróżnicowanym morfologicznie. Jelito przednie i tylne wyścielone są od strony ich światła kutikulą, natomiast od strony jamy ciała otoczone są przez warstwę mięśni poprzecznie prążkowanych o przebiegu okrężnym (warstwa zewnętrzna) i podłużnym (warstwa wewnętrzna). Natomiast jelito środkowe charakteryzuje się brakiem kutikuli i odwrotnym przebiegiem mięśni wisceralnych, gdzie warstwę zewnętrzną stanowią mięśnie o przebiegu podłużnym, a warstwę wewnętrzną – mięśnie o przebiegu okrężnym (Fot. 3A).

4.1.2. Budowa nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*

Jelito środkowe *A. gigas* wyścielone jest nabłonkiem jednowarstwowym wielorzędowym (Ryc. 1). Od strony światła jelita nabłonek pokrywa cienka błona perytroficzna, złożona z kilku warstw (Fot. 3B) uwidaczniających się w mikroskopie

elektronowym jako regularna sieć elektronowo gęstych włókien (Fot. 3C). Nabłonek ten charakteryzuje się występowaniem komórek o różnej wysokości, tak więc oprócz komórek trawiennych dosięgających światła jelita (Fot. 3D), występują również komórki nie posiadające kontaktu ze światłem jelita (Fot. 3E), zlokalizowane blisko cienkiej i pofałdowanej błony podstawnej. Struktura tego nabłonka nie wykazuje różnic w budowie na całej długości jelita środkowego. W nabłonku tym występują trzy typy komórek: komórki trawienne, regeneracyjne i wydzielnicze. Nie zaobserwowano różnic w strukturze i ultrastrukturze nabłonka jelita środkowego u samic i samców badanego gatunku, zarówno u osobników dorosłych, jak i juwenilnych, tak więc poniższy opis dotyczy wszystkich badanych przedstawicieli obu płci.

4.1.2.1. Ultrastruktura komórek trawiennych

Komórki trawienne są najliczniej występującymi komórkami nabłonka jelita środkowego. Mają kształt cylindryczny, a w ich cytoplazmie wyszczególnić można region bazalny, okołojądrowy i apikalny, różniące się między sobą rozmieszczeniem organelli komórkowych (Fot. 3D). Komórki trawienne spoczywają na bezkomórkowej błonie podstawnej i są do niej przytwierdzone za pomocą hemidesmosomów (Fot. 4A). Błona bazalna komórek trawiennych tworzy wpuklenia w głąb cytoplazmy (Fot. 4A, 4B). W cytoplazmie regionu bazalnego występują liczne mitochondria i cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 4B, 5B, 14E), a w niektórych z komórek trawiennych również gęsto upakowany materiał zapasowy (Fot. 5A, 5B, 13A, 14E).

Jądro komórkowe komórek trawiennych jest wydłużone i posiada owalny kształt. Zlokalizowane jest w centralnej części komórki lub przesunięte jest w kierunku błony bazalnej. Posiada heterochromatynę tworzącą niewielkie skupienia, umiejscowioną zwłaszcza przy otoczce jądrowej (Fot. 6A) oraz heterogenne jąderko. W pobliżu jądra komórkowego zlokalizowane są liczne cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 6A, 6B, 7D) i aparaty Golgiego (Fot. 6B). W regionie okołojądrowym występują także granule materiału o różnej gęstości elektronowej (Fot. 6A, 6B, 7A), wolne rybosomy (Fot. 7B), pojedyncze mitochondria i cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (Fot. 6B). Obserwowano również liczne, drobne pęcherzyki, których wnętrze wykazywało różną gęstość elektronową (Fot. 7A). W regionie tym elementy cytoszkieletu są wyraźnie widoczne szczególnie w pobliżu jądra komórkowego (Fot. 7A), jak również wzdłuż błony lateralnej komórki (Fot. 7B). W jądrach komórkowych niektórych komórek tworzą się głębokie wpuklenia w głąb

nukleoplazmy (Fot. 7C, 7D), wypełnione cytoplazmą wraz z organellami komórkowymi, na przykład cysternami siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 7D). W ten sposób jądro komórkowe komórek trawiennych może przyjmować nieregularny kształt.

Region apikalny stanowi największą część komórki trawiennej. W cytoplazmie tego regionu występują liczne mitochondria o wydłużonym kształcie, ciała wielopęcherzykowe, ciała lamellarne, pęcherzyki o różnej gęstości elektronowej i pojedyncze cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 8). W dolnej części regionu apikalnego, błony lateralne sąsiadnych komórek trawiennych są silnie pofałdowane (Fot. 9A, 9B). W cytoplazmie regionu apikalnego niektórych komórek trawiennych występują granule o różnej gęstości elektronowej (Fot. 9B, 31D) oraz sferyty o koncentrycznym wnętrzu (Fot. 10A, 10B, 20B, 33C), często zlokalizowane w pobliżu cystern siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 10A). Bezpośrednio pod błoną apikalną występuje wyraźny pas cytoplazmy, pozbawiony większości organelli komórkowych. Jest to podbłonowa warstwa korowa, w której zlokalizowane są długie, aktynowe korzenie mikrokosmków, ułożone równolegle do siebie i prostopadle w stosunku do błony apikalnej (Fot. 10B). Barwienie materiału z użyciem rodamino-falloidyny potwierdziło nagromadzenie aktyny w obszarze mikrokosmków i warstwy korowej (Fot. 10C). W cytoplazmie apikalnej obok elementów aktynowych, można zaobserwować pojedyncze pęcherzyki sekrecyjne o elektronowo jasnym wnętrzu i ziarna elektronowo gęstego materiału.

Błona apikalna komórek trawiennych tworzy długie mikrokosmki, które pokrywa od strony światła jelita warstwa substancji (Fot. 11A) wykazująca wyraźny charakter polisacharydowy (Fot. 11B).

W komórkach trawiennych obserwowano inwaginacje błony apikalnej, powstające u podstawy mikrokosmków. Wgłębienia te odznaczają się odmienną budową widoczną w mikroskopie elektronowym. Jeden ich rodzaj przyjmuje postać dołka, który od strony cytoplazmy jest oplaszczony elektronowo gęstą substancją (Fot. 11C, 11D). Drugi rodzaj wpukleń charakteryzuje się wydłużonym kształtem przypominającym kolbę (Fot. 11E, 11F). W obydwóch przypadkach dochodzi do zamknięcia wpuklenia i utworzenia pęcherzyka na terenie cytoplazmy.

W nabłonku jelita środkowego *A. gigas* stwierdzono procesy wydzielania zachodzące przy udziale komórek trawiennych. Sekrecja substancji zachodzi na drodze wydzielania mikroapokrynowego (Fot. 12A, 12B). Pęcherzyki sekrecyjne z

elektronowo jasnym wnętrzem przemieszczają się do wnętrza mikrokosmków, w wyniku czego dochodzi do ich rozszerzenia. Pęcherzyki następnie przemieszczają się wzdłuż mikrokosmków, a po dotarciu do ich części szczytowych zostają uwolnione do światła jelita, poprzez oderwanie się od szczytowej lub bocznej części mikrokosmków (Fot. 12B). Na terenie nabłonka jelita środkowego zachodzi również usuwanie do światła jelita całych grup komórek trawiennych (Fot. 12C, 12D) wraz z wszystkimi strukturami i organelami komórkowymi zlokalizowanymi w ich cytoplazmie. We wnętrzu tych komórek zgromadzone są gęsto upakowane granule różnych rozmiarów, charakteryzujące się różnymi rozmiarami i różną gęstością elektronową. Komórki te posiadają elektronowo gęstą cytoplazmę oraz zmienioną budowę cystern siateczki śródplazmatycznej i mitochondriów, wskazujących na zachodzące procesy apoptozy w ich wnętrzu (więcej informacji w rozdziale: 4.1.5.2. Apoptoza). Usunięte komórki w świetle jelita ulegają całkowitej degeneracji – strawieniu.

Materiał zapasowy jest często gromadzony w komórkach trawiennych i ma postać kulistych struktur o homogennym wnętrzu, różniących się między sobą gęstością elektronową. Przeprowadzone barwienia metodą Sudan czarny B (Fot. 13A) oraz reakcją PAS (Fot. 13B) wykazały tłuszczowy, cukrowy lub mieszany charakter materiałów zapasowych. Duże nagromadzenie materiałów zapasowych obserwowano głównie w regionie apikalnym i bazalnym, natomiast w regionie okołojądrowym granule materiału zapasowego były rzadziej obserwowane. W regionie apikalnym i okołojądrowym gromadzone są granule o charakterze polisacharydowym, lipidowo-polisacharydowym oraz krople lipidowe. W regionie bazalnym obserwowano w niektórych komórkach gęste nagromadzenie granul z jednym rodzajem materiału zapasowego, głównie kropel lipidowych. Na terenie cytoplazmy komórek trawiennych nie stwierdzono gromadzenia materiału zapasowego o charakterze białkowym (Fot. 13C).

W nabłonku jelita środkowego komórki trawienne połączone są między sobą za pomocą wyspecjalizowanych połączeń międzykomórkowych. W regionie apikalnym, w szczytowej części błon lateralnych stwierdzono obecność połączeń międzykomórkowych typu: gładkie połączenie przegrodowe (połączenie gładkie, *zonula continua*) (Fot. 14A). W dolnej części regionu apikalnego, w miejscu pofałdowań błon lateralnych obserwowano połączenia przegrodowe (Fot. 14B). W regionie okołojądrowym występują międzykomórkowe połączenia komunikacyjne typu neksus (Fot. 14C) oraz desmosomy punktowe (*macula adherens*) (Fot. 14D). W

regionie bazalnym połączeniami komórkowymi łączącymi sąsiednie komórki trawienne są desmosomy punktowe (Fot. 14E).

4.1.2.2. Ultrastruktura komórek regeneracyjnych

Drugim typem komórek tworzących nabłonek jelita środkowego są niewielkie komórki regeneracyjne, posiadające owalny kształt. Rozmieszczone są pojedynczo w nabłonku jelita środkowego; nie stwierdzono występowania grup czy krypt regeneracyjnych. Nie obserwowano również różnic w ich rozmieszczeniu wzdłuż całej długości jelita środkowego. Komórki regeneracyjne występują pomiędzy bazalnymi regionami komórek trawiennych, osadzone są na błonie podstawnej i nie kontaktują się ze światłem jelita. Charakteryzują się obecnością dużego, owalnego jądra komórkowego z heterochromatyną zlokalizowaną zwłaszcza przy otoczce jądrowej (Fot. 15A, 15B) oraz z homogennym jąderkiem. Błona bazalna nie tworzy wpukleń do wnętrza cytoplazmy. Cytoplazma komórek regeneracyjnych zawiera niewiele organelli komórkowych, przy czym najliczniej występują mitochondria, nagromadzone wokół jądra komórkowego i wolne rybosomy. W cytoplazmie tych komórek obserwowano również sporadycznie występujące cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, pojedyncze pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu, a także pojedyncze struktury elektronowo gęste (Fot. 15B). Rozmieszczenie wymienionych organelli komórkowych nie wykazuje cech regionalizacji. Komórki regeneracyjne połączone są z sąsiednimi komórkami trawiennymi za pomocą desmosomów punktowych (*macula adherens*) (Fot. 15C).

Podziały mitotyczne komórek regeneracyjnych były często obserwowane i zostały potwierdzone reakcjami z wykorzystaniem przeciwciał przeciwko ufosforylowanej postaci histonu H3 (Fot. 16A-F) oraz bromodeoksyuryny (Fot. 17A-F). Nie stwierdzono różnic w przebiegu podziałów komórkowych oraz ich intensywności u samic i samców z gatunku *A. gigas*. Struktury mitotyczne były często obserwowane w nabłonku w obszarach, gdzie dochodziło do usuwania całych komórek trawiennych do światła jelita. Podczas podziału komórka regeneracyjna ulega nieznacznemu wydłużeniu w stronę światła jelita, zwiększa się gęstość elektronowa cytoplazmy, chromatyna ulega kondensacji (Fot. 18A-G), a otoczka jądrowa zanika. Wrzeciono podziałowe ustawia się skośnie w stosunku do błony podstawnej (Fot. 18B, 18E). Chromosomy przesuwają się do przeciwległych biegunów wrzeciona podziałowego (Fot. 18C, 18G). W większości obserwowanych podziałów mitotycznych

w późnej anafazie zaczyna się proces cytokinezy (Fot. 18C). Jednakże w sporadycznych przypadkach podział cytoplazmy następuje dopiero po odtworzeniu otoczki jądrowej i utworzeniu jąder potomnych. Dochodzi wtedy do oddzielenia w czasie procesu kariokinezy i cytokinezy, tak że po podziale jądra komórkowego obserwowano dikariocyty (Fot. 18H).

Komórki regeneracyjne ulegają podziałowi asymetrycznemu, w wyniku którego odtworzona zostaje komórka regeneracyjna (jako tzw. komórka macierzysta), natomiast druga komórka wkracza na drogę różnicowania. Obserwowano różnicowanie się komórek regeneracyjnych tylko w jeden typ komórek nabłonka, a mianowicie w komórki trawienne. W różnicującej się komórce mitochondria zaczynają skupiać się w regionie apikalnym nad jądrem komórkowym (Fot. 19A, 19B). Zmianie ulega kształt komórki, która staje się najpierw stożkowata (Fot. 19A), a później wydłuża się (Fot. 19B) w stronę światła jelita. Wraz ze wzrostem komórki jądro komórkowe przyjmuje kształt owalny (Fot. 19B). Zwiększa się liczba pozostałych organelli komórkowych, które stopniowo uzyskują rozmieszczenie charakterystyczne dla poszczególnych regionów komórki trawiennej. Błona apikalna komórki różnicującej się zaczyna formować niewielkie zawiązki mikrokosmków (Fot. 20A). Jednocześnie dochodzi do utworzenia wyraźnej przestrzeni zewnątrzkomórkowej pomiędzy różnicującą się komórką a sąsiadującymi komórkami trawiennymi, do której wnętrza wchodzi formujące się mikrokosmki (Fot. 20B, 20C). Jednocześnie znacznie wzrasta ilość ciał wielopęcherzykowych, które rozpadają się na drobne pęcherzyki, a te następnie przemieszczają się w kierunku apikalnej błony komórki różnicującej się (Fot. 20A, 20C). Zaobserwowano obecność pojedynczych pęcherzyków wewnątrz wakuoli (Fot. 20C). Komórka różnicująca się tworzy nowe połączenia międzykomórkowe z sąsiednimi komórkami trawiennymi, błony lateralne w powstającym regionie apikalnym stają się pofałdowane i ostatecznie komórka uzyskuje kontakt ze światłem jelita (Fot. 20D).

4.1.2.3. Ultrastruktura komórek wydzielniczych

Trzeci typ komórek budujących nabłonek jelita środkowego to komórki wydzielnicze, które występują sporadycznie pomiędzy komórkami trawiennymi i regeneracyjnymi na całej długości jelita środkowego. Osadzone są na błonie podstawnej, z którą kontaktują się wypustkami cytoplazmatycznymi, wnikającymi pomiędzy części bazalne komórek trawiennych (Fot. 21A, 22B). Apikalna część

komórek wydzielniczych nie tworzy mikrokosmków i nie kontaktuje się ze światłem jelita (Fot. 21E, 22A). Komórki te są więc niższe niż wysokość nabłonka jelita środkowego i uważa się je za komórki wydzielnicze typu zamkniętego. Wszystkie obserwowane komórki wydzielnicze charakteryzują się inną gęstością elektronową niż pozostałe komórki występujące w nabłonku. Posiadają elektronowo jasną cytoplazmę oraz liczne, drobne, kuliste granule o różnej gęstości elektronowej (Fot. 21A-E, 22A-C, 31C), mające postać obłonionych pęcherzyków (Fot. 21D, 22C). W całej cytoplazmie analizowanych komórek występują wyraźne elementy cytoszkieletu (Fot. 21D, 22C).

Obserwowane w nabłonku jelita środkowego komórki wydzielnicze wykazywały znaczące różnice pod względem kształtu i ultrastruktury, jak również wielkości i rozmieszczenia granuli w cytoplazmie. Wymienione rozbieżności stały się podstawą do rozdzielenia populacji komórek wydzielniczych występujących w nabłonku jelita środkowego *A. gigas* na dwa typy.

Komórka wydzielnicza pierwszego typu (Fot. 21A-E) posiada wydłużony, buławkowaty kształt. Kontaktuje się z błoną bazalną poprzez wąską, długą wypustkę cytoplazmatyczną (Fot. 21A) i osiąga wysokość regionu okołojądrowego komórek trawiennych. Błona bazalna nie tworzy wpukleń do wnętrza cytoplazmy. Duże jądro komórkowe występuje w najszerszej części komórki i charakteryzuje się owalnym, wydłużonym kształtem (Fot. 21B) oraz niewielką ilością heterochromatyny, równomiernie rozmieszczonej w nukleoplazmie. Komórka zawiera drobne granule o różnej gęstości elektronowej, które są równomiernie i gęsto upakowane w całej cytoplazmie. Cytoplazma komórki jest uboga w organelle komórkowe; występują w niej niewielkie wakuole o elektronowo jasnym wnętrzu (Fot. 21B), pojedyncze cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 21D), wydłużone mitochondria (Fot. 21A, 21E). Pomiędzy komórką wydzielniczą tego rodzaju a sąsiednimi komórkami nabłonka jelita środkowego obserwowano połączenia komórkowe typu desmosomy punktowe (Fot. 21C). Nie stwierdzono obecności połączeń komórkowych łączących komórkę z błoną podstawną.

Komórka wydzielnicza drugiego typu (Fot. 22A-C) posiada owalny lub stożkowaty kształt i położona jest pomiędzy bazalnymi częściami komórek trawiennych (Fot. 22A). Kuliste jądro komórkowe występuje w centralnej części komórki lub w sąsiedztwie błony bazalnej (Fot. 22A) i posiada niewielką ilość heterochromatyny skupionej głównie w pobliżu otoczki jądrowej. W całej komórce występują liczne ziarna glikogenu (Fot. 22B, 22C), natomiast wydłużone mitochondria były

obserwowane głównie w apikalnej i bazalnej części komórki (Fot. 22A, 22C). W cytoplazmie rzadko występują cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej. Komórka kontaktuje się z błoną bazalną za pomocą kilku, krótkich wypustek cytoplazmatycznych. W cytoplazmie wypustek obserwowano gęsto upakowane, drobne granule o dużej gęstości elektronowej (Fot. 22B). Granule te występują głównie w bazalnej części komórki, natomiast ich obecność w pozostałych częściach komórki jest sporadyczna. W okolicach jądra komórkowego oraz w apikalnej części komórki wydzielniczej lokalizują się znacznie większe granule o średniej gęstości elektronowej. Występują w towarzystwie elementów aparatu Golgiego, jak również licznych ciał lamellarnych (Fot. 22C). W opisywanym typie komórki wydzielniczej nie obserwowano żadnych wyspecjalizowanych połączeń międzykomórkowych.

4.1.3. Komórki otaczające jelito środkowe *Archispirostreptus gigas*

W pobliżu jelita środkowego *A. gigas* występują komórki niebędące elementem składowym jego struktury, lecz wpływające na jego prawidłowe funkcjonowanie. W pobliżu błony podstawnej jelita środkowego obserwowano komórki wątrobowe oraz hemocyty.

Komórki wątrobowe występują licznie, lecz pojedynczo wzdłuż całej długości jelita środkowego. Rozmieszczenie komórek wątrobowych jest równomierne (Fot. 23B) i nie tworzą one jednolitej warstwy. Komórki te wyróżniają się nieregularnym kształtem, często wydłużonym i buławkowatym (Fot. 3A, 23A-C), na który wpływa obecność ich wypustek cytoplazmatycznych skierowanych w stronę nabłonka jelita środkowego (Fot. 23C, 24F). Najszerze części komórek zlokalizowane są w jamie ciała pod warstwą mięśni wisceralnych (Fot. 23B, 23C, 24E) i sąsiadują z elementami ciała tłuszczowego, tchawkami, hemocytami czy neuronami. Natomiast wypustki cytoplazmatyczne komórek wątrobowych zlokalizowane są pomiędzy warstwą mięśni wisceralnych (Fot. 23C, 24F) i kontaktują się bezpośrednio z błoną podstawną nabłonka.

Hemocyty obserwowano w hemocelu, pod warstwą mięśni wisceralnych (Fot. 23A, 23B). Występują pojedynczo i nielicznie, sąsiadując z komórkami wątrobowymi. Charakteryzują się nieregularnym, nieco wrzecionowatym kształtem i są zdecydowanie mniejszych rozmiarów niż komórki wątrobowe. Nie stwierdzono występowania hemocytów w błonie podstawnej czy w nabłonku jelita środkowego.

4.1.3.1. Ultrastruktura komórek wątrobowych

Cytoplazma komórek wątrobowych jest elektronowo jasna. W centralnej (rozszerzonej) części komórki występuje duże jądro komórkowe o nieregularnym kształcie. Otoczka jądrowa tworzy wyraźne uwypuklenia (Fot. 24A), w których zlokalizowana jest heterochromatyna. Nieliczne komórki wątrobowe posiadają dwa jądra komórkowe (Fot. 24B). Najliczniej występującymi organellami komórkowymi są mitochondria (Fot. 24C, 24H) posiadające wydłużony kształt. Elementy siateczki śródplazmatycznej szorstkiej występują sporadycznie, głównie w pobliżu błony komórkowej. W cytoplazmie obserwowano również autofagofomy, aparaty Golgiego (Fot. 24C) i granule o nieregularnym kształcie, zawierające heterogeny materiał elektronowo gęsty (Fot. 24A, 24B, 24D, 30C). Cechą charakterystyczną komórek wątrobowych jest występowanie licznych ziaren glikogenu, które często tworzą skupienia w głównej części komórki (Fot. 24A, 24D). Polisacharydowy charakter materiału zapasowego, gromadzonego przez komórki wątrobowe, został potwierdzony barwieniem PAS (Fot. 24E). W niektórych komórkach wątrobowych obserwowano różnych rozmiarów elektronowo jasne pęcherzyki oraz wakuole (Fot. 24A, 24B, 30C).

Cytoplazma wypustek tworzonych przez komórki wątrobowe jest uboga w organelle komórkowe; obserwowano w niej tylko nieliczne mitochondria. Zawiera natomiast wyraźnie zaznaczone elementy cytoszkieletu, przyjmujące równoległe ułożenie względem błony komórkowej (Fot. 24F). Wypustka cytoplazmatyczna zakończona jest cienkimi, palczastymi uwypukleniami, które przechodzą przez błonę podstawną nabłonka jelita środkowego i występują pomiędzy wpukleniami błony bazalnej komórek trawiennych (Fot. 24G). Nie obserwowano wypustek cytoplazmatycznych komórek wątrobowych w częściach bazalnych komórek regeneracyjnych czy wydzielniczych.

Błona komórkowa, otaczająca centralną część komórki wątrobowej, przeważnie tworzy niewielkie wpuklenia w głąb cytoplazmy (Fot. 24H), które nie występują w tworzonych przez komórkę wypustkach cytoplazmatycznych.

4.1.3.2. Ultrastruktura hemocytów

Hemocyty charakteryzują się obecnością w centralnej części komórki dużego jądra komórkowego o płatownym kształcie (Fot. 25A-C), które zawiera heterochromatynę zlokalizowaną głównie przy otoczce jądrowej. W cytoplazmie występują liczne, duże granule, posiadające elektronowo gęste wnętrza. Granule te

różnią się między sobą kształtem i nieznacznie gęstością elektronową. Zlokalizowane są równomiernie w całej komórce (Fot. 25A-C), w pobliżu jądra komórkowego, jak również w pobliżu błony komórkowej. Materiał zawarty wewnątrz opisywanych granul posiada białkowy charakter, co zostało potwierdzone badaniami histochemicznymi z użyciem błękitu rtęciowo-bomofenolowego (Fot. 25D). W cytoplazmie hemocytów pomiędzy granulami występują mitochondria, nieliczne cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej, pojedyncze ziarna glikogenu (Fot. 25B, 25C), aparaty Golgiego i nieduże wakuole z elektronowo jasnym wnętrzem (Fot. 25C). Dodatkowo na terenie cytoplazmy, głównie w pobliżu błony komórkowej, obserwowano znacznie większe, owalne wakuole, w których występował materiał o niejednorodnej strukturze i średniej gęstości elektronowej (Fot. 25A, 25B). Błona komórkowa hemocytów nie tworzy pofałdowań czy wpukleń.

4.1.4. Mikroorganizmy w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*

Obecność mikroorganizmów w obrębie jelita środkowego stwierdzono tylko u 10% wszystkich przebadanych osobników z gatunku *A. gigas*. Budowę morfologiczną przypominają pierwotniaki należące do gregaryn. Formy życiowe tych jednokomórkowych organizmów licznie występowały w regionach apikalnych komórek trawiennych, tworząc uwypuklenia na powierzchni nabłonka (Fot. 26A, 26D). Obserwowano mikroorganizmy w świetle jelita zainfekowanych dwuparców, jak również na terenie nabłonka jelita środkowego, w regionie cytoplazmy okołojądrowej komórek trawiennych. Ciało mikroorganizmów, obserwowanych w świetle jelita oraz w obrębie nabłonka, było podzielone na trzy części różnych rozmiarów, przy czym jądro komórkowe zlokalizowane było centralnie w największej z nich (Fot. 26B). W cytoplazmie mikroorganizmu znajdowały się liczne materiały zapasowe (Fot. 26G, 26H) o charakterze głównie polisacharydowym (Fot. 26B) i białkowym (Fot. 26C), co zostało potwierdzone swoistymi reakcjami histochemicznymi (pozytywny wynik reakcji PAS i barwienia błękitem bromofenolowym). Pas cytoplazmy pod błoną komórkową tych mikroorganizmów jest wyraźnie wolny od materiałów zapasowych (Fot. 26E). Mikroorganizmy posiadają pofałdowaną błonę komórkową (Fot. 26E), tworzącą prążki na ich powierzchni ciała (Fot. 26F). Formy życiowe mikroorganizmów występujące w obrębie nabłonka jelita środkowego otoczone były przez duże krople materiału o charakterze tłuszczowym (Fot. 26D) i tworzyły uwypuklenia ściany jelita wraz z rozdętymi komórkami trawiennymi (Fot. 26A, 26D). W świetle jelita, tuż przy granicy z

nabłonkiem, otoczone były przez pasma cytoplazmy komórki trawiennej, której błona komórkowa ulegała rozpadowi.

4.1.5. Degeneracja jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*

W nabłonku jelita środkowego badanego gatunku występują trzy rodzaje śmierci komórkowej: apoptoza, nekroza i autofagia. Dominującym typem jest nekroza, natomiast apoptoza występuje najrzadziej. Autofagia zachodzi z umiarkowaną częstością, równocześnie z pozostałymi typami śmierci komórkowej wzdłuż całej długości jelita środkowego. Zmiany degeneracyjne obserwowano również w otaczających nabłonek jelita środkowego komórkach wątrobowych. Nie stwierdzono różnic w przebiegu procesów degeneracyjnych pomiędzy samicami i samcami, jak również pomiędzy osobnikami dorosłymi a juvenilnymi.

4.1.5.1. Autofagia

Proces autofagii zachodzi z umiarkowaną częstotliwością jednocześnie w różnych komórkach trawiennych nabłonka jelita środkowego (Fot. 27A), natomiast w komórkach wątrobowych był rzadziej obserwowany. Typem autofagii, który udokumentowano w jelicie środkowym była makroautofagia. Nie obserwowano procesu autofagii w komórkach wydzielniczych czy regeneracyjnych.

Na terenie cytoplazmy komórek trawiennych degenerujące organelle komórkowe, które charakteryzują się zmienioną budową (Fot. 27B), gromadzą się w cytoplazmie, a w ich pobliżu zaczynają powstawać struktury błoniaste – formujący się fagofor. Fagofor tworzy podwójna błona, która wraz ze wzrostem końców fagoforu zaczyna przypominać kształtem „miseczkę” czy „spłaszczony dysk”. Końce błony izolującej ulegają elongacji (Fot. 27B, 27C), aż do momentu zamknięcia się pęcherzyka i utworzenia autofagosomu. W konsekwencji dochodzi do odizolowania organelli komórkowych mających ulec strawieniu wraz z częścią cytoplazmy i zamknięcia ich wewnątrz autofagosomu.

Błony tworzących się autofagosomów są gładkie, pozbawione rybosomów. Tworzący się fagofor często występuje w peryferycznych częściach komórki, w pobliżu lateralnej błony komórkowej komórek trawiennych (Fot. 27B). W bliskim sąsiedztwie tworzących się fagoforów i autofagosomów obserwowano również ciała wielopęcherzykowe (Fot. 27B), mitochondria, pęcherzyki o elektronowo jasnym

wnętrzu (Fot. 27B, 27C, 28A) oraz cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (Fot. 28A).

Obserwowano makroautofagię niespecyficzną, w której izolowane były różne organelle komórkowe. Organellami, które podlegały degradacji wewnątrz autofagosomu były m. in. elementy siateczki śródplazmatycznej gładkiej, pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu, mitochondria, ciała lamellarne, materiał zapasowy. Niektóre struktury autofagiczne zawierały w przewodzie organelle komórkowe jednego rodzaju, np. mitochondria (Fot. 28A), , cysterny siateczki śródplazmatycznej (Fot. 27C)

Do powstałych autofagosomów transportowane zostają lizosomy (Fot. 28A, 28B), które ulegają fuzji z błoną otaczającą autofagosom (Fot. 28A). Wnętrze powstających w ten sposób autolizosomów staje się elektronowo gęste (Fot. 28B, 28C), natomiast degradowany materiał ulega stopniowym zniekształceniom i kondensacji. Niestrawione resztki, widoczne w postaci ciał resztkowych (Fot. 7D, 28D, 30B), lokalizują się najczęściej w regionie okołojądrowym i apikalnym.

Na terenie cytoplazmy komórek trawiennych stwierdzono również duże autofagosomy i autolizosomy z wyraźnymi elementami jądra komórkowego, zwane nukleofagosomami (Fot. 29A-D). Najczęściej lokalizowały się one w rejonie okołojądrowym komórek trawiennych. Obserwowane nukleofagosomy zawierały znaczne ilości cytoplazmy i organelle komórkowe, takie jak cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, wakuole, mitochondria. Ulegające degradacji fragmenty jądra komórkowego posiadały chromatynę jądrową skupioną w postaci owalnych struktur, występujących w pobliżu trawionej otoczki jądrowej, która z czasem ulegała całkowitemu rozpadowi (Fot. 29D).

W zależności od liczby i rodzaju organelli przeznaczonych do degradacji autofagosomy różnią się wielkością. Obserwowano wiele drobnych autofagosomów zlokalizowanych blisko siebie (Fot. 30A), jak również pojedyncze, duże autofagosomy, w szczególności nukleofagosomy, z których po procesie degradacji pozostawały ciała resztkowe wielkości jądra komórkowego komórki trawiennej (Fot. 30B).

Autofagosomy były również obserwowane w cytoplazmie komórek wątrobowych. Lokalizują się one w różnych regionach cytoplazmy ciała komórki wątrobowej i zazwyczaj występują w niewielkich skupiskach (Fot. 30C). Obserwowane autofagosomy były zazwyczaj drobne i zawierały heterogeny materiał o różnej gęstości elektronowej.

Wykonane barwienie analizujące aktywność fosfatazy kwaśnej (Fot. 30D), obecnej w lizosomach i autolizosomach, potwierdziło duży udział autofagii w procesach zachodzących w nabłonku jelita środkowego *A. gigas*.

4.1.5.2. Apoptoza

Degeneracja w wyniku apoptozy zachodzi rzadko w jelicie środkowym tego gatunku i obserwowana była tylko w zróżnicowanych komórkach trawiennych. Apoptozie zazwyczaj ulegają pojedyncze komórki trawienne. Jednakże istnieją również grupy komórek trawiennych występujących blisko siebie, które wykazują cechy komórek apoptotycznych (Fot. 31A-C). Podczas apoptozy zachodzą takie zmiany morfologiczne komórki, jak zwiększenie gęstości elektronowej cytoplazmy (Fot. 31B-E, 32A-D, 33A-D) i jądra komórkowego (Fot. 31C, 31E, 32A-D), nabrzmienie cystern siateczki śródplazmatycznej (Fot. 31E, 32C). Zmiany zachodzą również w strukturze mitochondriów (Fot. 31D, 31E, 32C), które tracą swe grzebienie mitochondrialne i stają się nabrzmiałe. W komórkach apoptotycznych jądro komórkowe ulega obkurczeniu (Fot. 32A) i zmienia kształt na płatowaty (Fot. 32B, 32C). Z czasem może dochodzić do jego fragmentacji (Fot. 32C). Chromatyna jądrowa ulega silnej kondensacji i często lokalizuje się przy otoczce jądrowej (Fot. 32D), a pozostałe organelle komórkowe stają się silnie elektronowo gęste. W wyniku obkurczania się komórki organelle komórkowe stają się gęsto upakowane, a błona komórkowa traci kontakt z sąsiednimi komórkami trawiennymi, co skutkuje powstaniem wyraźnych przestrzeni międzykomórkowych (Fot. 32C, 32D). Zanikają także połączenie międzykomórkowe pomiędzy komórką apoptotyczną a sąsiednimi komórkami trawiennymi. W regionie apikalnym stopniowo komórka apoptotyczna zostaje usuwana do światła jelita (Fot. 33A, 33B), a w rezultacie utraty kontaktu z błoną podstawną, zostaje wypchnięta do światła jelita (Fot. 33C-E), gdzie ulega nekrozie wtórnej.

Obserwowane w niektórych komórkach apoptotycznych zmiany, takie jak występowanie elektronowo jasnych pęcherzyków (Fot. 31C, 31E, 32B), rozcięcie elementów siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej (Fot. 31E), jak również tworzenie się drobnych wakuol (Fot. 32B), świadczą o zachodzącym procesie nekrozy wtórnej, który rozpoczyna się, gdy komórki pozostają jeszcze w nabłonku. W komórkach apoptotycznych z przejawami nekrozy wtórnej często obserwowano nagromadzenia licznych granul (Fot. 31C, 32B).

Zachodzący proces apoptozy na terenie nabłonka jelita środkowego został potwierdzony reakcją immunofluorescencyjną TUNEL (Fot. 34A, 34B).

4.1.5.3. Nekroza

Nekroza jest często obserwowanym typem śmierci komórkowej, który występuje z taką samą intensywnością na całej długości jelita środkowego i dotyczy wyłącznie komórek trawiennych. W komórce nekrotycznej mitochondria ulegają degeneracji (Fot. 35A), a cytoplazma staje się stopniowo elektronowo jasna (Fot. 35A-G). Powstają w niej liczne wakuole o elektronowo jasnym wnętrzu (Fot. 35B). Jądro komórkowe również staje się elektronowo jasne (Fot. 35B-E), a chromatyna jądrowa ulega kondensacji w różnych obszarach nukleoplazmy (Fot. 35D). Otoczka jądrowa traci integralność (Fot. 35D). W rezultacie cytoplazma komórki ulega silnej wakuolizacji (Fot. 35E), a organelle komórkowe stają się rozdęte (Fot. 35C). Błona apikalna komórki traci mikrokosmki i tworzy buławkowate uwypuklenia do światła jelita (Fot. 35F). Z czasem błona apikalna ulega rozerwaniu, a cytoplazma wraz z organellami usunięta zostaje do światła jelita (Fot. 35G). W cytoplazmie komórek nekrotycznych często występują sferyty (Fot. 35G) i struktury świadczące o zachodzącym procesie autofagii (Fot. 35E) oraz nieliczne granule (Fot. 35C, 35E).

Na terenie nabłonka jelita środkowego nie obserwowano nekrozy komórek regeneracyjnych czy wydzielniczych.

4.2. Budowa, regeneracja i degeneracja nabłonka jelita środkowego *Julus scandinavius*

4.2.1. Organizacja układu pokarmowego *Julus scandinavius*

Przewód pokarmowy *J. scandinavius* (Fot. 36A) posiada kształt prostej tuby, rozciągającej się centralnie wzdłuż całego ciała osobnika. Można go podzielić na trzy odcinki: jelito przednie, jelito środkowe oraz jelito tylne. Najkrótszą częścią układu pokarmowego jest wąskie jelito przednie, do którego uchodzą gruczoły ślinowe. Przejście jelita przedniego w jelito środkowe, zwane zastawką kardialną, jest słabo zaznaczone (Fot. 36B). Wyraźniej widoczny jest łącznik jelita środkowego z jelitem tylnym. Stanowi go rozbudowany odcinek pyloryczny (Fot. 36A, 36C) posiadający cylindryczną postać, zwężający się w kierunku dystalnym i znacznie odróżniający się od reszty jelita tylnego.

Najdłuższym odcinkiem układu pokarmowego jest jelito środkowe, które stanowi około 45% jego całej długości. Jest prostą rurą, o owalnym przekroju i dużym świetle (Fot. 37A), rozszerzone w stosunku do jelita przedniego oraz tylnego.

Jelito tylne jest najbardziej zróżnicowanym odcinkiem układu pokarmowego pod względem budowy makroskopowej, a jego ściana jest wyraźnie pofałdowana. Jelito przednie oraz tylne są wyścielone warstwą kutikuli, a od strony jamy ciała otoczone dwoma warstwami mięśni wisceralnych: warstwą wewnętrzną – mięśnie o przebiegu podłużnym, i warstwą zewnętrzną – mięśnie o przebiegu okrężnym. Nabłonek jelita środkowego otoczony jest także warstwami mięśni wisceralnych, jednak o przebiegu odwrotnym niż w przypadku jelita przedniego i tylnego: warstwę wewnętrzną stanowią mięśnie okrężne, a warstwę zewnętrzną – mięśnie podłużne (Fot. 37B, 37C, 55A). Ze względu na fakt, że nie stwierdzono różnic w budowie jelita środkowego i ultrastrukturze jego nabłonka u samic i samców analizowanego gatunku, jak również u form młodocianych, poniższy opis dotyczy wszystkich przebadanych przedstawicieli *J. scandinavius*.

4.2.2. Budowa jelita środkowego *Julus scandinavius*

Nabłonek jelita środkowego jest nabłonkiem jednowarstwowym (Ryc. 2). Osadzony jest na bezkomórkowej błonie podstawnej, a od strony światła jelita chroniony jest przez błonę perytroficzną (Fot. 37D, 37E), o wyraźnej wielowarstwowej warstwowej strukturze. Komórki budujące nabłonek mają różną wysokość, stąd nie wszystkie kontaktują się ze światłem jelita (Fot. 37F, 37G). Tak więc nabłonek ten można skwalifikować również jako wielorzędowy. Trzy typy komórek wyróżniono w nabłonku jelita środkowego (Fot. 37G): komórki trawienne, komórki regeneracyjne i komórki wydzielnicze.

4.2.2.1. Ultrastruktura komórek trawiennych

Komórki trawienne mają największy udział w budowie nabłonka jelita środkowego, stanowiąc jego główną część. Kształt komórek jest cylindryczny. Rozmieszczenie organelli komórkowych jest różne w poszczególnych częściach cytoplazmy komórek trawiennych (Fot. 37F), dlatego wyróżniono w nich regiony: bazalny, okołojądrowy i apikalny.

Komórki przytwierdzone są do błony podstawnej za pomocą hemidesmosomów (Fot. 38A, 38B). Błona bazalna tworzy wpuklenia w głąb cytoplazmy (Fot. 38A, 38B),

których występowanie związane jest z tworzeniem palczastych wypustek cytoplazmatycznych przez leżące poza nabłonkiem komórki wątrobowe. W regionie bazalnym występują liczne mitochondria oraz cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, często tworzące skupienia o półkolistym kształcie (Fot. 38B). Obserwowano także odkładanie niewielkich ilości materiału zapasowego w postaci granul o średniej gęstości elektronowej, przypominające krople lipidowe. W regionie tym sąsiednie komórki trawienne połączone są za pomocą połączeń typu neksus (Fot. 38A, 39A) oraz poprzez desmosomy punktowe (Fot. 38B, 39B).

Region okołojądrowy charakteryzuje się występowaniem mniejszej niż w regionie bazalnym liczby mitochondriów, a cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej skupiają się głównie na obrzeżach komórki oraz w pobliżu jądra komórkowego (Fot. 40A, 40B). W regionie tym występują także liczne cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej, aparaty Golgiego (Fot. 40A), pojedyncze wakuole (Fot. 40A, 40B) oraz pęcherzyki o jasnym elektronowo wnętrzu (Fot. 40A). Jądro komórkowe jest wydłużone, o owalnym kształcie i posiada jedno lub dwa jąderka (Fot. 40B). Skupienia heterochromatyny występują w pobliżu otoczki jądrowej, jak również są równomiernie rozmieszczone w nukleoplazmie. Sporadycznie w niektórych komórkach w pobliżu jądra komórkowego gromadzony jest materiał zapasowy w postaci dużych kul o heterogennym wnętrzu i różnej gęstości elektronowej (Fot. 40C). W regionie okołojądrowym obserwowano również wyraźne elementy cytoszkieletu komórkowego. Mikrotubule, układają się w płaszczyznach równoległych do błony lateralnej komórki (Fot. 41A), natomiast mikrofilamenty (Fot. 41B) obserwowano w pobliżu jądra komórkowego. W regionie okołojądrowym, pomiędzy sąsiadującymi ze sobą komórkami trawiennymi, występują trzy rodzaje połączeń międzykomórkowych: desmosomy punktowe (Fot. 41C), komunikacyjne połączenia komórkowe typu neksus (Fot. 41D) oraz połączenia przegrodowe (Fot. 41D).

Region apikalny stanowi największą część komórki trawiennej i jest bogaty w różne organelle komórkowe. W jego cytoplazmie występują liczne mitochondria, cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 42A-C) i gładkiej (Fot. 42C), autofagosomy (Fot. 42A, 42B), aparaty Golgiego oraz ciała lamellarne (Fot. 42B). W regionie apikalnym lokalizuje się materiał zapasowy w postaci kul o średniej gęstości elektronowej, stanowiący krople lipidowe (Fot. 42A, 45A, 45B). Większość komórek w regionie tym zawiera również sferyty (Fot. 42B, 42C, 60E), które charakteryzuje koncentryczne ułożenie materiału w ich wnętrzu. Materiał ten układa się stopniowo,

tworząc kolejne warstwy ułożone dośrodkowo. W poszczególnych komórkach obserwowano wyłącznie sferyty, będące w podobnej fazie ich powstawania. W komórkach znajdują się sferyty, w których materiał dopiero zaczyna się odkładać (Fot. 42B, 60E) lub w pełni zróżnicowane sferyty z wykształconymi warstwami (Fot. 42C). W regionie apikalnym komórek trawiennych stwierdzono również powstawanie granul otoczonych pojedynczą błoną, zawierających materiał elektronowo gęsty (Fot. 42A). Materiał ten odkłada się stopniowo, a w końcowej fazie całkowicie wypełnienia pęcherzyk (Fot. 42C).

Błona apikalna komórek trawiennych tworzy długie i cienkie mikrokosmki, których korzenie, utworzone przez elementy cytoszkieletu aktynowego, wnikają w głąb cytoplazmy (Fot. 43A). Nagromadzenie aktynowych elementów cytoszkieletu w tej części komórek trawiennych zostało potwierdzone barwieniem z użyciem rodaminy sprzężonej z falloidyną (Fot. 43B). Podbłonowa część cytoplazmy komórek trawiennych pozbawiona jest większości organelli komórkowych, prócz pojedynczych pęcherzyków. Jest to tak zwana warstwa korowa, która u tego gatunku jest mniej wyraźnie zaznaczona niż u *A. gigas*. Bezpośrednio pod warstwą korową lokalizują się głównie liczne mitochondria oraz ciała wielopęcherzykowe (Fot. 43A).

Sąsiednie komórki trawienne w regionie apikalnym połączone są za pomocą kilku rodzajów połączeń międzykomórkowych. Najbliżej światła jelita stwierdzono występowanie gładkich połączeń międzykomórkowych (Fot. 43C, 43D). Następnie występuje strefa zamykająca (Fot. 43D), a pod nią desmosomy punktowe (Fot. 43D), które obserwowane były w całym regionie apikalnym.

Wydzielanie w komórkach trawiennych następuje dwoma sposobami. W szczytowych częściach mikrokosmków tworzą się buławkowate uwypuklenia (Fot. 44A), które odłączają się od błony w postaci niewielkich pęcherzyków (Fot. 44B). Jest to wydzielanie mikroapokrynowe. W nabłonku jelita środkowego badanego gatunku obserwowano także wydzielanie apokrynowe (Fot. 44C-E). W tym przypadku w szczytowej części komórki tworzy się uwypuklenie apikalnej błony komórkowej, która traci mikrokosmki. Do tworzącego się tzw. pęcherzyka sekrecyjnego przemieszczają się organelle komórkowe, pęchechyki o średniej gęstości elektronowej oraz materiały zapasowe (Fot. 44D, 44E). Następnie pas cytoplazmy, łączącej powstający pęcherzyk sekrecyjny z pozostałą częścią komórki, ulega zaciśnięciu (Fot. 44E), co w konsekwencji prowadzi do odseparowania pęcherzyka od całej komórki i uwolnienia go do światła jelita.

Na terenie cytoplazmy komórek trawiennych często obserwowano gromadzenie materiału zapasowego w postaci granul różniących się gęstością elektronową. Przeprowadzone barwienia histochemiczne z użyciem Sudanu czarnego B (Fot. 45A) potwierdziły tłuszczowy charakter kul, których występowanie stwierdzono we wszystkich regionach komórki trawiennej. Przeważnie krople lipidowe występują w postaci drobnych kul, jednak w niektórych komórkach w regionie apikalnym obserwowano krople lipidowe znacznie większych rozmiarów (Fot. 45A, 45B). Wynik przeprowadzonej reakcji PAS (Fot. 45C) wskazuje na polisacharydowy charakter materiału zgromadzonego w granulach i sferytach występujących głównie w regionie apikalnym komórki. W odróżnieniu od *A. gigas*, u *J. scandinavius* w nabłonku jelita środkowego wykazano obecność materiału zapasowego o charakterze białkowym (Fot. 45D) i mieszanym, polisacharydowo-białkowym. Przyjmuje on postać elektronowo gęstych kul i granul o różnej gęstości elektronowej, które lokalizują się głównie w regionie okołojądrowym i apikalnym.

4.2.2.2. Ultrastruktura komórek regeneracyjnych

Komórki regeneracyjne osadzone są na błonie podstawnej i występują pomiędzy bazalnymi częściami komórek trawiennych na całej długości jelita środkowego. Komórki te są zlokalizowane zazwyczaj pojedynczo pomiędzy pozostałymi komórkami nabłonka (Fot. 37F, 37G, 46A, 46C, 47A-C), jednak w niektórych przypadkach zaobserwowano występowanie kilku komórek regeneracyjnych w swoim bezpośrednim sąsiedztwie (Fot. 46B). Obserwowane grupy obejmują dwie lub trzy komórki regeneracyjne, jednak nie tworzą ani gniazd, ani krypt regeneracyjnych. Są to komórki niewielkich rozmiarów, przeważnie o stożkowatym kształcie, nie kontaktujące się ze światłem jelita. Ich błona bazalna nie tworzy wpukleń, które są charakterystyczne dla komórek trawiennych. Centralną część komórki zajmuje duże, owalne jądro komórkowe, w którym występuje homogenne jąderko (Fot. 46A, 46B) i heterochromatyna, tworząca niewielkie skupiska równomiernie rozmieszczone w nukleoplazmie. Pozostałe organelle komórkowe występują w niewielkiej ilości i nie wykazują regionalizacji w rozmieszczeniu; są to głównie mitochondria, pojedyncze cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 46A, 46B) i gładkiej (Fot. 46C) oraz ciała wielopęcherzykowe (Fot. 46A, 46B). Cytoplazma tych komórek charakteryzuje się niewielką gęstością elektronową. Komórki regeneracyjne połączone są ze sobą oraz sąsiednimi komórkami trawiennymi za pomocą desmosomów

punktowych (Fot. 46A, 46B). Natomiast w błonie bazalnej, posiadającej bezpośredni kontakt z blaszką podstawną obserwowano również hemidesmosomy (Fot. 46D), będące elementem mocującym komórkę do błony podstawnej.

Podziały komórek regeneracyjnych (Fot. 47A-C) odbywają się w sposób ciągły i były obserwowane u wszystkich osobników. W jądrze komórkowym komórki regeneracyjnej rozpoczynającej podział komórkowy dochodzi w pierwszej kolejności do zagęszczenia chromatyny jądrowej (Fot. 47A). Mitochondria przemieszczają się i zaczynają skupiać po przeciwnych stronach jądra komórkowego. Po rozpadzie otoczki jądrowej chromosomy zgrupowane zostają w płytce metafazowej, która ustawia się prostopadle lub nieznacznie skośnie w stosunku do błony podstawnej (Fot. 47B, 47C). Podziały komórkowe zostały potwierdzone za pomocą barwienia fluorescencyjnego znakującego histon H3 (Fot. 48 A-F) oraz reakcji z użyciem bromodeoksyurydyny, umożliwiającej detekcję komórek proliferujących (Fot. 49A-C).

Podział komórek regeneracyjnych jest podziałem asymetrycznym. W wyniku mitozy zostaje odtworzona komórka macierzysta o morfologii komórki regeneracyjnej, zdolna do dalszych podziałów oraz powstaje komórka potomna, wchodząca na drogę różnicowania się. W komórce różnicującej się dochodzi do wzrostu liczby mitochondriów i ich skupienia w szczytowej części cytoplazmy (Fot. 50A-C). Obserwowano również pojawianie się drobnych wakuol (46C, 47A, 50B, 50C, 51A-D) o elektronowo jasnym lub elektronowo gęstym wnętrzu. Kształt komórki zmienia się na owalny, poprzez stopniowe wydłużanie się komórki w stronę światła jelita (Fot. 50C, 51A). Mitochondria przesuwają się wraz z wydłużającą częścią apikalną komórki. Także w cytoplazmie regionu bazalnego różnicującej się komórki stopniowo pojawiają się liczne mitochondria oraz coraz większe ilości cystern siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 46C, 47A, 51A). Błona bazalna zaczyna stopniowo tworzyć wpuklenia charakterystyczne dla komórek trawiennych (Fot. 46C, 51A) oraz pojawia się większa liczba hemidesmosomów. W części apikalnej różnicującej się komórki także stopniowo wzrasta liczba organelli komórkowych, takich jak mitochondria, autofagosomy oraz cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej. W cytoplazmie tego regionu obserwowane były również ciała wielopęcherzykowe (Fot. 51B, 52C) i lamellarne (Fot. 51C, 51D). Różnicująca się komórka pozostaje połączona z sąsiednimi komórkami trawiennymi za pomocą desmosomów punktowych (Fot. 51C), jak również w części szczytowej wydłużającej się komórki powstaje nowy rodzaj połączeń komórkowych: połączenia komunikacyjne typu neksus (Fot. 51D).

Podczas postępującego procesu różnicowania się dochodzi do wytworzenia nad szczytową częścią komórki wyraźnej wakuoli zewnątrzkomórkowej (Fot. 52A-D). Jest to przestrzeń zewnątrzkomórkowa, powstająca pomiędzy różnicującą się komórką a leżącymi nad i obok niej komórkami trawiennymi. Wakuola ta umożliwia uwypuklanie się fragmentów błony apikalnej komórki różnicującej się, które tworzą zawiązki przyszłych mikrokosmków. Pod zawiązkami mikrokosmków zlokalizowane są wyraźne elementy cytoszkieletu (Fot. 52B-D). Charakterystyczna dla tego stadium różnicowania się komórki jest obecność w cytoplazmie regionu apikalnego licznych ciał wielopęcherzykowych (Fot. 52C). Tuż pod błoną apikalną występują liczne pęcherzyki, o różnej gęstości elektronowej (Fot. 52B, 52C), które przemieszczają się w stronę kształtujących się mikrokosmków i rosnącej wakuoli. Pęcherzyki te, łącząc się z błoną apikalną (Fot. 52E), dostarczają elementy składowe do budowy rozrastającej się błony komórkowej oraz umożliwiają powiększanie się wakuoli poprzez uwolnienie swojej zawartości do przestrzeni zewnątrzkomórkowej. W konsekwencji przestrzeń ta powiększa się, a zawiązki mikrokosmków ulegają wydłużeniu (Fot. 52D). Obserwowano również wolne pęcherzyki wewnątrz powstającej przestrzeni zewnątrzkomórkowej (Fot. 52A). Podczas formowania mikrokosmków dochodzi również do wytworzenia wyspecjalizowanych połączeń z komórkami sąsiednimi w apikalno-lateralnych częściach komórki (Fot. 52A). W zaawansowanym stadium różnicowania się komórki można już dostrzec regionalizację w rozmieszczeniu organelli komórkowych, podobną do występującej w zróżnicowanych komórkach trawiennych (Fot. 52C, 52D). Pod błoną apikalną gromadzą się głównie elementy cytoszkieletu tworząc warstwę korową. Poniżej gromadzą się liczne mitochondria i ciała wielopęcherzykowe, następnie lokalizują się powstające sferyty, a jeszcze niżej liczne cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej oraz aparaty Golgiego. Jądro komórkowe w takiej komórce posiada już owalny kształt i lokuje się poniżej środkowej części komórki. Z czasem komórka taka uzyskuje połączenie ze światłem jelita (Fot. 52F) i staje się funkcjonalną komórką trawienną.

4.2.2.3. Ultrastruktura komórek wydzielniczych

Trzecim typem komórek występującym w nabłonku jelita środkowego *J. scandinavicus* są komórki wydzielnicze (Fot. 37G, 53A-C, 54A-E). Są one rozmieszczone pojedynczo i równomiernie pomiędzy komórkami trawiennymi na całej długości jelita środkowego. Komórki te nie posiadają jednolitego kształtu.

Przeprowadzone obserwacje w mikroskopie elektronowym wykazały, że charakteryzują się dużą zmiennością pod tym względem; występują komórki maczugowate (Fot. 53A), nieregularne (Fot. 53B) lub owalne (Fot. 37G, 53C). Wszystkie spoczywają na błonie podstawnej i nie kontaktują się ze światłem jelita, co pozwala klasyfikować je jako komórki typu zamkniętego.

Cechą charakterystyczną komórek wydzielniczych jest równomierne występowanie w całej cytoplazmie licznych granul o dużej gęstości elektronowej (Fot. 53A-C, 54A-E). Pomimo różnic w kształcie komórek wydzielniczych granule występujące w ich cytoplazmie wykazują podobną budowę: posiadają kulisty kształt i nieznacznie różnią się między sobą wielkością i gęstością elektronową.

Jądro komórkowe jest różnie zlokalizowane w komórkach wydzielniczych. W zależności od jej kształtu może być umiejscowione w górnej (Fot. 53A), środkowej (Fot. 53C) lub bazalnej (Fot. 53B) części cytoplazmy komórki wydzielniczej. Posiada nieregularny kształt, niewielką ilość heterochromatyny, zlokalizowaną przy otoczce jądrowej oraz homogenne jąderko (Fot. 53A, 53C). Błona bazalna komórek wydzielniczych nie tworzy charakterystycznych dla komórek trawiennych wpukleń do wnętrza cytoplazmy (Fot. 54A). Brak jest również hemidesmosomów pomiędzy komórką i błoną podstawną. Komórki wydzielnicze zawierają znaczną ilość organelli komórkowych, które nie wykazują regionalizacji ich rozmieszczenia w cytoplazmie. Często występującymi organellami są cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (Fot. 53B, 53C, 54B, 54C) i aparaty Golgiego (Fot. 53C, 54B). W cytoplazmie obserwowano również ciała lamellarne (Fot. 53B, 54C) i wielopęcherzykowe (Fot. 54B), mitochondria i wolne rybosomy, oraz sporadycznie występujące cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 54D). Dodatkowo na terenie komórki występują wakuole o elektronowo jasnym wnętrzu (Fot. 53A, 54D) oraz tworzące się autofagosomy (Fot. 53B). Komórki wydzielnicze połączone są z sąsiednimi komórkami za pomocą desmosomów punktowych (Fot. 54E).

4.2.3. Komórki otaczające jelito środkowe *Julus scandinavius*

Bezpośrednio pod błoną podstawną nabłonka jelita środkowego *J. scandinavius*, podobnie jak u *A. gigas*, występują wspomniane mięśnie poprzecznie prążkowane o ułożeniu okrężnym, a pod nimi, głębiej osadzone w jamie ciała, mięśnie poprzecznie prążkowane o przebiegu podłużnym (Fot. 37B, 37C, 55A). Pod i pomiędzy warstwą mięśni wisceralnych, występują komórki wątrobowe wraz z tchawkami (Fot. 55B, 56A)

i zakończeniami neuronów (Fot. 55B, 55C). W komórce wątrobowej można wyróżnić ciało komórki i odchodzące od niego wypustki cytoplazmatyczne. Ciało komórki to najszersza część komórek wątrobowych, która umiejscowiona jest pod warstwą mięśni wisceralnych. Ciało komórki wątrobowej posiada nieregularny kształt, uzależniony od otaczających je struktur. Natomiast charakterystyczne wypustki cytoplazmatyczne (Fot. 55C, 58A-E) skierowane są w stronę podstawy nabłonka jelita środkowego, gdzie wciskają się pomiędzy mięśnie wisceralne i przechodzą przez błonę podstawną nabłonka jelita. Przyjmują postać palczastych uwypukleń pomiędzy pofałdowaniami błony bazalnej komórek trawiennych. Komórki wątrobowe są ściśle upakowane wzdłuż całego jelita środkowego, jednak nie tworzą ciągłej warstwy.

W przeciwieństwie do *A. gigas*, u *J. scandinavius* nie obserwowano hemocytów pomiędzy komórkami wątrobowymi lub w pobliżu nabłonka jelita środkowego.

4.2.3.1. Ultrastruktura komórek wątrobowych

Komórki wątrobowe posiadają elektonowo jasną cytoplazmę i niewiele organelli komórkowych, lokalizujących się prawie wyłącznie w ciele komórki, w części zwróconej w stronę jamy ciała. W centralnej części ciała komórki występuje jądro komórkowe o nieregularnym kształcie, często zbliżonym do owalnego (Fot. 56A, 58A, 58E) lub płatowatego (Fot. 56B). Jądro komórkowe posiada luźną strukturę chromatyny, z niewielką ilością heterochromatyny, zgromadzonej głównie przy otoczce jądrowej lub równomiernie rozmieszczonej w kariolimfie oraz heterogenne jąderka. Nie obserwowano występowania więcej niż jednego jądra komórkowego w komórce wątrobowej u przedstawicieli tego gatunku.

Region cytoplazmy pod jądrem komórkowym jest miejscem, gdzie najliczniej występują duże mitochondria. Gromadzą się także tutaj wolne rybosomy i cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (Fot. 56C). Pojedyncze cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej, które występują w komórkach wątrobowych, były obserwowane głównie w peryferycznych częściach cytoplazmy, w pobliżu błony komórkowej (Fot. 56C, 56D, 57E, 57F, 61G). Sporadycznie organelle te występują również w centralnej części komórki, w bliskim sąsiedztwie niektórych mitochondriów (Fot. 56E). W komórkach wątrobowych obserwowano również ziarna glikogenu (Fot. 56C, 56E, 58A), czasami dość licznie występujące w całej cytoplazmie komórki. Dodatkowo na terenie cytoplazmy komórek wątrobowych obserwowano pęcherzyki o elektonowo jasnym wnętrzu, ciała lamellarne i autofagosomy (Fot. 56C). Cechą

charakterystyczną komórek wątrobowych jest również występowanie nieregularnych granul o heterogennym wnętrzu i różnej gęstości elektronowej (Fot. 57A). Przeprowadzone reakcje histochemiczne wskazują na białkowy i polisacharydowy charakter materiału zgromadzonego w granulach (Fot. 57B, 57C). Gromadzone na terenie cytoplazmy granule często ulegają izolowaniu poprzez błony w procesie autofagii (Fot. 56C, 57A, 57D, 61F, 61G).

Błona komórkowa tych komórek charakteryzuje się silnym pofałdowaniem, które może sięgać głęboko w głąb cytoplazmy (Fot. 57D-F). Pomiedzy labiryntem pofałdowanej błony komórkowej niejednokrotnie obserwowano organelle komórkowe, takie jak cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 56D, 57E, 57F) czy mitochondria (Fot. 56C, 56D, 57D-F). W niektórych komórkach wątrobowych pofałdowania oddzielają peryferyczną część cytoplazmy, tak że powstaje wyraźne przewężenie (Fot. 57F), przez które przemieszczają się organelle komórkowe. Tak wykształcona błona komórkowa otacza ciało komórki, natomiast w wypustkach cytoplazmatycznych komórek wątrobowych pofałdowań błony komórkowej nie stwierdzono. Od zewnątrz każdą komórkę otacza błona podstawna (Fot. 56C, 56D, 57D-F).

Wypustki cytoplazmatyczne komórek wątrobowych, skierowane w stronę nabłonka jelita środkowego, charakteryzują się cytoplazmą ubogą w organelle komórkowe. Obserwowano w ich obrębie tylko nieliczne mitochondria (Fot. 58A, 58B), ziarna glikogenu (Fot. 58A), autofagosomy (Fot. 58B) czy ciała wielopęcherzykowe (Fot. 58C). W cytoplazmie wypustek wyraźnie widoczne pozostają elementy cytoszkieletu ułożone równolegle do błony komórkowej otaczającej wypustkę cytoplazmatyczną (Fot. 58B, 58D). Szczytowe części wypustek cytoplazmatycznych przechodzą przez błonę podstawną nabłonka i przyjmują postać cienkich, palczastych uwypukleń cytoplazmy, lokalizujących się pomiędzy wpukleniami błony bazalnej zróżnicowanych komórek trawiennych (Fot. 38A, 38B, 58B-E). Uwypuklenia te posiadają również wyraźnie widoczne elementy cytoszkieletu; nie obserwowano natomiast w ich obrębie żadnych organelli komórkowych. Jedna komórka wątrobową może tworzyć kilka wypustek cytoplazmatycznych zakończonych palczastymi uwypukleniami, które mogą występować wewnątrz wpukleń błony bazalnej różnych komórek trawiennych (Fot. 58B, 58E).

4.2.4. Mikroorganizmy w jelicie środkowym *Julus scandinavius*

Mikroorganizmy w jelicie środkowym *J. scandinavius* były obserwowane nielicznie. Z pośród wszystkich przebadanych osobników, jedynie 5% wykazywało obecność organizmów w obrębie jelita środkowego. Cechy morfologiczne obserwowanych mikroorganizmów wskazują na pierwotniaki należące do gregaryn.

Obserwowane były wolne formy w świetle jelita, jak również organizmy, które wniknęły do nabłonka jelita środkowego. Formy życiowe występujące w świetle jelita posiadają podzielone ciało (Fot. 59A), otoczone pofałdowaną błoną komórkową (Fot. 59B, 59C). Formy życiowe, występujące na terenie nabłonka były zlokalizowane wewnątrzkomórkowo w cytoplazmie komórek trawiennych (Fot. 59D, 59E) i otoczone nieodróżnicowaną błoną komórkową.

W świetle jelita środkowego, jak również w jego nabłonku nie stwierdzono obecności innych mikroorganizmów, których cechy pozwoliłyby na stwierdzenie, iż są organizmami endosymbiotycznymi.

4.2.5. Degeneracja w jelicie środkowym *Julus scandinavius*

Na terenie nabłonka jelita środkowego *J. scandinavius* obserwowane były trzy typy śmierci komórkowej: autofagia, apoptoza i nekroza. Dominującym typem degeneracji jest apoptoza, często występująca wraz z autofagią. Nekroza obserwowana była sporadycznie.

4.2.5.1. Autofagia

Autofagia występuje często w komórkach trawiennych nabłonka jelita środkowego, umiarkowanie w komórkach wątrobowych, natomiast sporadycznie w komórkach wydzielniczych. Jedynym obserwowanym typem autofagii we wszystkich trzech typach komórek była makroautofagia.

W peryferycznych częściach cytoplazmy komórek trawiennych, w których obserwowano autofagię, dochodzi do zgromadzenia degenerujących organelli komórkowych (Fot. 60A-D). Organelle te wraz z częścią cytoplazmy zaczyna otaczać błoniasta struktura – fagofor, którego końce ulegają wydłużeniu (Fot. 60C, 60D), aż do momentu połączenia się błon izolujących i utworzenia autofagosomu. Obserwowane błony fagoforu były pozbawione rybosomów. Tworzące się i już powstałe autofagosomy występowały w bliskim sąsiedztwie lateralnej błony komórkowej (Fot. 42A, 60A-C), drobnych pęcherzyków o elektronowo jasnym wnętrzu (Fot. 60A-C),

mitochondriów (Fot. 42B, 60B), cystern siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (Fot. 42A, 42B, 60C, 60E, 60F) i gładkiej (Fot. 60E) oraz ciał wielopęcherzykowych (Fot. 60E) czy lamellarnych (Fot. 42B). W następnej kolejności autofagosomy komórek trawiennych ulegają fuzji z lizosomami (Fot. 60B), w wyniku której tworzą się autolizosomy (Fot. 61A, 61B). Cechą charakterystyczną autolizosomów jest znaczne zwiększenie gęstości elektronowej jego wnętrza, w którym dochodzi do stopniowego trawienia zgromadzonych struktur komórkowych. Przeważnie obserwowano autofagosomy i autolizosomy zawierające wewnątrz różne organelle komórkowe (Fot. 60A, 60F), takie jak: wolne rybosomy, pęcherzyki, pojedyncze mitochondria, cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej i szorstkiej, ciała lamellarne i wielopęcherzykowe, krople lipidowe. Niektóre wakuole autofagiczne zawierały w swoim wnętrzu większość elementów komórkowych jednego rodzaju. Stwierdzono występowanie autofagosomów z przewagą cystern siateczki śródplazmatycznej gładkiej (Fot. 60D) i szorstkiej (Fot. 61B), jak również zawierających sferyty (Fot. 42B, 60E), gromadzone w cytoplazmie regionu apikalnego komórek trawiennych.

Autofagosomy występujące w komórkach trawiennych posiadały różną wielkość. Drobne autofagosomy występowały licznie szczególnie w regionie apikalnym komórek trawiennych (Fot. 42A, 42B), natomiast większe autofagosomy oraz autolizosomy zlokalizowane były przeważnie w regionie okołojądrowym (Fot. 61A).

Pozostałe po degradacji wnętrza autolizosomu struktury tworzą w cytoplazmie komórki tzw. ciała reszkowe (Fot. 61C-E). Częstym zjawiskiem obserwowanym w regionach apikalnych komórek było zbliżanie się autofagosomów, autolizosomów i ciał reszkowych do błony komórkowej (Fot. 61C-D) i usuwanie ich zawartości z cytoplazmy do światła jelita poprzez łączenie się błon struktury autofagicznej z błoną komórkową (Fot. 61E). Zjawisko to występowało szczególnie intensywnie w komórkach ulegających apoptozie.

Autofagosomy były obserwowane również na terenie cytoplazmy komórek wydzielniczych oraz komórek wątrobowych. W komórkach wydzielniczych zazwyczaj przyjmowały postać dużych pęcherzyków zlokalizowanych w pobliżu jądra komórkowego (Fot. 53B). W ich wnętrzu obserwowano pojedyncze mitochondria, wakuole i liczne drobne pęcherzyki, charakterystyczne dla komórek wydzielniczych. W komórkach wątrobowych autofagosomy występowały w bliskim sąsiedztwie mitochondriów, aparatu Golgiego oraz cystern siateczki śródplazmatycznej gładkiej. Zawierały w swym wnętrzu fragmenty cytoplazmy wraz z materiałem elektronowo

gęstym (Fot. 56C, 57A, 61F, 61G), który ulegał strawieniu po połączeniu się wakuoli autofagicznej z lizosomem (Fot. 61G).

Proces autofagii w nabłonku jelita środkowego został potwierdzony poprzez pozytywne wyniki reakcji na aktywność fosfatazy kwaśnej w lizosomach i autolizosomach (Fot. 61H).

4.2.5.2. Apoptoza

Programowanej śmierci komórkowej ulegały liczne komórki trawienne (Fot. 62A), ale nie obserwowano tego procesu w pozostałych typach komórek nabłonka jelita środkowego, ani w komórkach wątrobowych.

W komórce apoptotycznej cytoplazma staje się silnie elektronowo gęsta, a organelle komórkowe ściśle upakowane. Wzrasta również gęstość elektronowa jądra komórkowego (Fot. 62A-C, 63A, 63B), które z czasem przyjmuje nieregularny, płatowaty kształt, a chromatyna jądrowa ulega silnej kondensacji zazwyczaj w centralnej części nukleoplazmy. Transformacji ulegają mitochondria, które tracą swą fizjologiczną strukturę, ich wnętrze przyjmuje pośrednią gęstość elektronową i zanikają grzebienie mitochondrialne (Fot. 62D).

W części apikalnej obserwowano liczne autofagosomy, autolizosomy i ciała resztkowe (Fot. 62D, 63C). Błona apikalna wraz z częścią cytoplazmy tworzą usuwane do światła jelita uwypuklenia, tzw. pączki apoptotyczne (Fot. 63C), które fragmentują zawartość komórki apoptotycznej.

Stopniowo komórka apoptotyczna ulega obkurczeniu. Powstają wyraźne przestrzenie międzykomórkowe (Fot. 63D), stopniowo separujące komórkę apoptotyczną z tkanki nabłonkowej. Na obrzeżach komórki, tuż pod błoną komórkową powstają liczne, elektronowo jasne pęcherzyki o niewielkich rozmiarach (Fot. 62A, 62D, 63A, 63B). Zmianie ulega również kształt całej komórki apoptotycznej (Fot. 63B). Dochodzi do utraty połączeń międzykomórkowych komórki apoptotycznej z sąsiednimi komórkami trawiennymi i usunięcia jej do światła jelita, gdzie ulega nekrozie wtórnej (Fot. 63E). W elektronowo gęstej cytoplazmie powstają wakuole i wolne przestrzenie, a błona komórkowa traci swą integralność.

Proces apoptozy w nabłonku jelita środkowego został potwierdzony reakcją immunohistochemiczną TUNEL (Fot. 64A, 64B).

4.2.5.3. Nekroza

Nekroza jest sporadycznie występującym typem śmierci komórkowej na terenie nabłonka jelita środkowego badanego gatunku. Występuje w sposób ciągły i dotyczy komórek trawiennych. Nie obserwowano zmian nekrotycznych w komórkach regeneracyjnych, wydzielniczych czy komórkach wątrobowych.

Cytoplazma komórki ulegającej degradacji w procesie nekrozy staje się elektronowo jasna. Organelle komórkowe, takie jak cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej i szorstkiej czy mitochondria, stają się nabrzmiące, a w cytoplazmie zaczynają pojawiać się liczne pęcherzyki z elektronowo jasnym wnętrzem (Fot. 65A). Pęcznieniu ulega również jądro komórkowe. Nukleoplazma staje się elektronowo jasna, natomiast chromatyna jądrowa ulega marginalizacji (Fot. 65A, 65D). Z czasem większość organelli komórkowych ulega destrukcji (Fot. 65B, 65C), a cytoplazma komórki staje się silnie elektronowo jasna. Na terenie komórki pojawiają się również wakuole o elektronowo jasnym wnętrzu (Fot. 65D). W końcowym etapie błona nabrzmiącej komórki nekrotycznej pęka, a cytoplazma wraz z pozostałościami po zdegradowanych strukturach komórkowych usuwane są do światła jelita (Fot. 65E, 65F).

5. DYSKUSJA

5.1. Struktura układu pokarmowego wijów

Przewód pokarmowy wijów jest cylindryczną tubą, pozbawioną jakichkolwiek rozgałęzień, rozciągającą się przez całe ciało osobnika od otworu gębowego do odbytu, zlokalizowanego na telsonie (Lewis 1981, Hopkin i Read 1992, Minelli 1993, 2011, 2015, Rosenberg 2009). Zazwyczaj przyjmuje postać prostej rury, jednak u niektórych przedstawicieli Diplopoda, należących do rodziny Glomeridae ulega wygięciu na kształt litery S (Hopkin i Read 1992). Podobnie jak u innych stawonogów, zbudowany jest z wyraźnie zaznaczonych, funkcjonalnie i morfologicznie różnych odcinków, na które składają się występujące kolejno po sobie jelito przednie, jelito środkowe oraz jelito tylne (Harrison i Humes 1992, Icely i Nott 1992, Minelli 1993, 2011, 2015). Jelito przednie rozpoczyna się otworem gębowym i rozciąga aż do zastawki kardialnej, która oddziela je od jelita środkowego. Natomiast na granicy jelita środkowego i tylnego występuje zastawka pyloryczna. Podczas rozwoju zarodkowego stawonogów odcinki przewodu pokarmowego zostają utworzone z różnych listków zarodkowych: jelito przednie i tylne powstają z ektodermy, a jelito środkowe z endodermy. Jelito przednie i jelito tylne przeważnie pokryte są od strony światła jelita grubą kutykulą, której brak w jelicie środkowym. Przewód pokarmowy stawonogów jest silnie umięśnionym narządem, otoczonym przez warstwy mięśni poprzecznie prążkowanych, umożliwiających prawidłowe ruchy perystaltyczne. Ektodermalne odcinki układu pokarmowego otacza kilka warstw mięśni wisceralnych (trzewnych) o różnym ułożeniu włókien mięśniowych względem głównej osi ciała. Mięśnie położone bardziej dośrodkowo, bliżej nabłonka jelita, mają zazwyczaj podłużny przebieg, natomiast te, występujące bardziej zewnętrznie, bliżej ciała tłuszczowego, to przeważnie mięśnie okrężne. Natomiast mięśnie wisceralne otaczające jelito środkowe mają odwrotne ułożenie: bliżej nabłonka jelita środkowego występują mięśnie okrężne, a zewnętrzną warstwę stanowią mięśnie o przebiegu podłużnym (Minelli 2011, 2015).

U przedstawicieli poszczególnych grup wijów układ pokarmowy charakteryzuje się odmienną organizacją, wyrażającą się w zmiennej długości i różnym stopniu rozbudowania poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego. Istnieje bardzo mało danych literaturowych opisujących budowę układu pokarmowego u drobnonogów (Symphyla) (Juberthie-Jupeau 1979) i skąponogów (Paupoda) (Tiegs 1947, Dallai i in. 1990), a podane informacje nie przedstawiają całości zagadnienia. Obecnie najlepiej

zbadane pod tym względem pozostają pareczniki (Chilopoda) (Plateau 1878, Balbiani 1890, Takakuwa 1955, Kaufman 1960, 1961a, 1961b, 1962, Shukla 1962, 1964, Seifert 1967, Jangi 1966, Rilling 1968, Sundara Rajulu 1970a, 1970b, Wenning 1979, Lewis 1981, Minelli 1993, 2011, Vandenbulcke i in. 1998a, b, Koch i Edgecombe 2006, 2008, Edgecombe i Koch 2009, Hilken i Rosenberg 2009, Rosenberg 2009, Koch i in. 2011, Chajec i in. 2012, 2014) i dwuparce (Diplopoda) (Hefner 1929, Miley 1930, Nunez i Crawford 1976, 1977, Shukla i Shukla 1980, Crawford i in. 1983, Schlüter 1980a, 1980b, Schlüter i Seifert 1985, Hopkin i Read 1992, Fontanetti i Camargo-Mathias 1997, Fantazzini i in. 1998, 2002, Camargo-Mathias i in. 2004, Miyoshi i in. 2005, Deshmukh i Deshmukh 2011, Moreira-de-Sousa i Fontanetti 2012, Sosinka i in. 2014, Fontanetti i in. 2015, Moreira-de-Sousa i in. 2016).

Jelito przednie wijów jest odcinkiem uniemożliwiającym cofanie się pobranego pożywienia, w którym spożyty pokarm podczas przemieszczania się zostaje rozdzielony, rozdrobniony i wstępnie trawiony. Otoczone jest gruczołami ślinowymi, których wydzielina zawiera enzymy trawienne i rozluźnia masy pokarmowe (Minelli 1993, 2011, 2015, Hopkin i Read 1992, Fantazzini i in. 1998, Camargo-Mathias i in. 2011, Fontanetti i in. 2015). U drapieżnych pareczników jest najbardziej zróżnicowaną pod względem budowy morfologicznej częścią przewodu pokarmowego, mimo że może różnić się długością u przedstawicieli tej grupy. Stosunkowo krótkie jelito przednie posiadają na przykład gatunki należące do Scutigeromorpha i Lithobiomorpha, u których przyjmuje ono postać prostej i wąskiej tuby (Kaufman 1961a, 1961b, Rilling 1968, Hilken i Rosenberg 2009). Przedstawiciele Geophilomorpha posiadają jelito przednie o silnie zwężonym świetle, które jest znacznie wydłużone w stosunku do długości całego przewodu pokarmowego (Kaufman 1960, Minelli 1993, 2011). Natomiast u gatunków należących do Scolopendromorpha jelito przednie stanowi najdłuższy odcinek przewodu pokarmowego o zróżnicowanej anatomii. Wyraża się ona poprzez obecność nawet kilku obszarów różniących się budową morfologiczną, takich jak gardziel, przełyk z wolem i żołądek, które niejednokrotnie zawierają pofałdowania, bruzdy, rowki oraz wyrostki i kolce, ułatwiające rozcieranie czy segregację pokarmu (Gibson-Carmichael 1885, Balbiani 1890, Jangi 1966, Kaufman 1962, Koch i in. 2009). Jelito przednie pareczników zbudowane jest z jednowarstwowego nabłonka, utworzonego z komórek o cylindrycznym lub sześciennym kształcie (Kaufman 1960, 1961a, Minelli 1993, Rosenberg 2009). W tej części przewodu pokarmowego znajdują ujście gruczoły ślinowe, różnie wykształcone u poszczególnych gatunków Chilopoda

(Kaufman 1962, Minelli 1993, Hilken i Rosenberg 2009, Kamińska i in. 2016), umożliwiające wstępną obróbkę hydrolityczną pokarmu. Niektóre dane literaturowe sugerują, iż enzymy trawienne mogą być również wytwarzane w niektórych częściach jelita przedniego pareczników (Koch i in. 2011). Jelito przednie Chilopoda oddzielone jest od jelita środkowego zastawką kardialną, którą otaczają silne włókna mięśniowe o przebiegu okrężnym (Minelli 1993, 2011).

Przedstawiciele Diplopoda, posiadają jelito przednie zróżnicowane na przełyk i gardziel, otoczone gruczołami ślinowymi (Fantazzini i in. 1998, Camargo-Mathias i in. 2011, Minelli 2015). Często jelito przednie tej grupy wijów stanowi najkrótszy odcinek przewodu pokarmowego, jak to ma miejsce u *Rhinocricus padbergi* (Spirobolida) (Fantazzini i in. 1998) czy *Plusioporus setiger* (Spirostreptida) (Fontanetti i Camargo-Mathias 1997). Podobnie u obu badanych gatunków, zarówno u *A. gigas*, jak również u *J. scandinavius* jest ono najkrótszą częścią przewodu pokarmowego. Charakterystyczną cechą histologiczną tego odcinka jest obecność w jego świetle uwypukleń, które są utworzone przez kutykulę i komórki nabłonka wraz błoną podstawną, na której komórki spoczywają (Fontanetti i in. 2015). U niektórych gatunków dwuparców występuje zróżnicowanie morfologiczne komórek nabłonka jelita przedniego. Przejawia się ono występowaniem w obrębie nabłonka jelita przedniego tego samego osobnika komórek o różnych kształtach: cylindrycznym, sześciennym czy silnie wydłużonym, w zależności od ich lokalizacji w jelicie przednim (Hefner 1929, Fontanetti i Camargo-Mathias 1997, Deshmukh i Deshmukh 2011, Moreira-de-Sousa i Fontanetti 2012).

Następny odcinek przewodu pokarmowego wijów, czyli jelito środkowe stanowi bardzo ważny narząd pod względem pełnionych w organizmie funkcji. U stawonogów odpowiedzialny jest za trawienie pokarmu, syntezę i sekrecję enzymów trawiennych, absorpcję i magazynowanie składników pokarmowych, jak również może uczestniczyć w wydalaniu zbędnych metabolitów azotowych oraz ochronie całego organizmu przed toksynami i patogenami (Lewis 1981, Hopkin i Read 1992, Migula 1993, Köhler i Alberti 1992, Köhler i in. 1995, Vandenbulcke i in 1998a, Hung i in. 2000, Fontanetti i in. 2001, Rost 2006b, Rost-Roszkowska i Undrul 2008, Rost-Roszkowska i in. 2008a, b, 2010f, Filimonova 2009, Nogarol i Fontanetti 2011). Wykazuje podobną budowę u większości przebadanych przedstawicieli Myriapoda. Przedstawia się jako prosta tuba, o rozszerzonym świetle i prostej budowie w porównaniu do innych grup stawonogów, gdzie jelito środkowe może być zróżnicowane i może ulegać licznym modyfikacjom (Szwamwicz 1956, Billingsley 1990, Silva i in. 1995, Rost-Roszkowska 2008b,

Filimonova 2008, 2009, Klann i Alberti 2010). Nie występują w nim żadne uchylki, czy odgałęzienia, a u wielu gatunków odznacza się również morfologiczną jednorodnością, bez wydzielenia części mogących pełnić odmienną funkcję (Hopkin i Read 1992, Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Fontanetti i in. 2015). W budowie tego odcinka układu pokarmowego wijów, podobnie jak u przedstawicieli sześcionogów (Hexapoda), nie występują odrębne narządy lub gruczoły dodatkowe wspomagające funkcjonowanie jelita środkowego, których obecność wykazują inne grupy stawonogów, takie jak szczękoczułkowce (Chelicerata) czy skorupiaki (Crustacea). Jednak u dwuparców jelito środkowe otoczone jest przez komórki wątrobowe, które funkcjonalnie porównuje się do wątrobotrzustki innych stawonogów (Hopkin i Read 1992).

Wije posiadają jelito środkowe różnej długości w odniesieniu do całego przewodu pokarmowego. U niektórych gatunków Diplopoda, jelito środkowe stanowić może najdłuższą część, tak jak ma to miejsce u *Trigoniulus lumbricinus* (Shukla i Shukla 1980) czy gatunków z nadrzędu Julida (Hefner 1929, Blower 1985), w tym analizowanego *J. scandinavius*. W przypadku *A. gigas*, podobnie jak u *Rhinocricus padbergi* (Fantazzini i in. 1998) czy *Narceus americanus* (Miley 1930), stwierdzono pośrednią długość jelita środkowego. Ściana jelita środkowego *A. gigas* formuje fałdy uwypuklające się do światła jelita, tak zwane kosmki, opisane także u innych przedstawicieli wijów (Fantazzini i in. 2002), których funkcją jest zwiększanie powierzchni tego narządu. U *J. scandinavius* nie obserwowano takiej struktury jelita środkowego. W tym przypadku ściana jelita jest gładka. Zjawisko to może być związane z faktem, iż u *J. scandinavius* jelito środkowe jest najdłuższym odcinkiem całego przewodu pokarmowego i nie jest konieczne zwiększanie jego powierzchni. Natomiast osobniki *A. gigas* posiadają znacznie większe rozmiary niż *J. scandinavius*, a pomimo to ich jelito środkowe jest krótsze w stosunku do długości całego przewodu pokarmowego. Pofałdowanie powierzchni jelita środkowego *A. gigas* może więc przyczyniać się do intensyfikacji procesów związanych z trawieniem i absorpcją składników pokarmowych, rekompensując tym samym relatywnie krótszy odcinek jelita środkowego u tego gatunku.

Jelito środkowe wszystkich stawonogów jest pozbawione kutikuli, która zanika w obszarze zastawki kardialnej, natomiast w większości przypadków jest wyścielone od strony jego światła bezkomórkową, półprzepuszczalną błoną perytroficzną (Nunez i Crawford 1977, Humbert 1979, Peters 1992, Eisemann i Binnington 1994, Lane i in.

1996, Jarial i Engstrom 1997, Lehane 1997, Srivastava 1997, Binnington i in. 1998, Terra 2001, Wang i Granados 2001, Martin i in. 2006, Rost-Roszkowska i Undrul 2008, Rost-Roszkowska i in. 2010d, Urbanek i Rost-Roszkowska 2015, Merzendorfer i in. 2016). U niektórych dwuparców jej obecność stwierdzono także w jelicie przednim i tylnym (Hopkin i Read 1992, Fantazzini i in. 1998, 2002, Fontanetti i Camargo-Mathias 1997, Moreira-de-Sousa i Fontanetti 2012). Struktura ta jest wytworem komórek trawiennych jelita środkowego i u wielu organizmów powstaje na całej jego długości. W niektórych przypadkach może być wytwarzana przez wyspecjalizowane komórki skupione w przedniej lub tylnej części jelita środkowego (Chapman 1998, Billingsley 1990, Barbehenn 2001). Zazwyczaj przyjmuje postać sieci i składa się z regularnie ułożonych chitynowych włókien zanurzonych w macierzy perytroficznej, utworzonej przez gatunkowo specyficzne białka, glikoproteiny i proteoglikany (Bowen 1968b, Martin i Kirkham 1989, Peters 1992, Lehane 1997, Binnington i in. 1998, Tellam i in. 1999, Hegedus i in. 2009, Toprak i in. 2010, Kszuk-Jendrysik 2015). Najwięcej danych dotyczących błony perytroficznej pochodzi z badań nad owadami, podczas gdy dane dotyczące wijów, w tym dwuparców są ubogie (Fontanetti i in. 2015). U owadów błona ta może powstawać w sposób ciągły lub być wytwarzana jedynie podczas przyjmowania pokarmu (Peters 1992, Chapman 1998, Andrade-Coêlho i in. 2001). Może składać się z pojedynczej warstwy, jednak znacznie częściej przyjmuje postać wielowarstwową. Spełnia głównie funkcję ochronną w stosunku do nabłonka jelita; otaczając przemieszczające się masy pokarmu zabezpiecza przed uszkodzeniami mechanicznymi oraz ogranicza przedostawanie się szkodliwych związków chemicznych czy patogenów, mogących zaburzyć homeostazę organizmu (Lehane 1997, Shao i in. 2001, Terra 2001). Jej obecność usprawnia proces trawienia i wchłaniania substancji odżywczych, głównie poprzez kompartmentację światła jelita i wytworzenie fizjologicznie różnych obszarów (Lehane 1997, Bolognesi i in. 2008). Masy pokarmu oddzielone od nabłonka jelita środkowego błoną perytroficzną lokalizują się w wewnątrzperytroficznej przestrzeni, do której mogą przedostawać się enzymy biorące udział we wstępnym trawieniu związków wielkocząsteczkowych. Mniejsze molekuly substancji odżywczych przenikają do obszaru pomiędzy błoną perytroficzną a powierzchnią nabłonka, czyli przestrzeni zewnątrzperytroficznej, gdzie następuje ich zagęszczenie i dalsza obróbka hydrolityczna. Filtrowanie substancji odżywczych od resztek, które nie ulegają strawieniu, i koncentracja enzymów, rozkładających oligomery w przestrzeni zewnątrzperytroficznej, podnosi wydajność procesu trawienia i

absorpcji składników odżywczych przez nabłonek jelita środkowego (James i Nation 2015). Wśród wijów występowanie kompartmentów tworzonych przez błonę perytroficzną zostało także udokumentowane (Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015). Umożliwia ona rozdzielenie trawienia na procesy zachodzące na terenie przestrzeni endoperytroficznej (makrocząsteczki), w przestrzeni ektoperytroficznej (oligomery i dimery) oraz końcowe trawienie wewnątrzkomórkowe, zachodzące na terenie cytoplazmy komórek trawiennych. Jednym z gatunków należących do dwuparców, u którego struktura i ultrastruktura błony perytroficznej zostały dokładnie opisane, jest *Telodeinopus aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015) czy *Polyxenus lagurus* (Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015). U tych gatunków błona perytroficzna składa się z warstwy zbudowanej z siatki włókien o regularnych otworach w postaci kwadratów, która zatopiona jest w tzw. macierzy perytroficznej. Przez otwory siatki przechodzą szczytowe odcinki mikrokosmków. Obecność błony perytroficznej w jelicie środkowym została także stwierdzona u *A. gigas* i *J. scandinavius*. W obydwu przypadkach struktura ta wyraźnie oddziela przestrzenie: zewnątrz- i wewnątrzperytroficzną. Zarówno u *J. scandinavius*, jak i u *A. gigas* błona ta posiada budowę wielowarstwową, lecz należy zauważyć, iż u pierwszego z badanych gatunków składa się z większej ilości warstw. W mikroskopie elektronowym błona perytroficzna w obu przypadkach przedstawia się jako regularna sieć elektronowo gęstych włókien i jest podobna do budowy tej struktury u *Cylindroiulus londinensis* (Hubert 1979b) czy *Glomeris marginata* (Martin i Kirkham 1989). W badaniach przeprowadzonych u tego drugiego gatunku wykazano, iż regularne ułożenie włókien chitynowych jest wynikiem zaangażowania mikrokosmków komórek nabłonka jelita w mechanizm powstawania błony perytroficznej.

Błona perytroficzna nie była obserwowana u wszystkich analizowanych osobników *A. gigas* i *J. scandinavius*. Jej stwierdzenie u badanych zwierząt było możliwe, gdy w świetle jelita znajdowały się masy pokarmu. Fakt ten może sugerować, iż struktura ta u tych gatunków nie powstaje w sposób ciągły, a jej wytwarzanie jest skorelowane z przyjmowaniem i trawieniem pokarmu. Jednakże przygotowanie materiału do analizy mikroskopowej wymaga wielokrotnego płukania tkanek, podczas których to czynności błona perytroficzna wraz z masami pokarmowymi może ulec mechanicznemu usunięciu. Podczas prowadzenia hodowli osobniki miały stały dostęp do pokarmu, więc potwierdzenie zależności pomiędzy występowaniem i grubością błony perytroficznej a przyjmowaniem pokarmu wymaga odrębnych badań.

Występujące za jelitem środkowym jelito tylne jest zazwyczaj silnie rozbudowanym odcinkiem u Diplopoda, natomiast u Chilopoda stanowi niewielką część przewodu pokarmowego. U wszystkich wijów, podobnie jak innych stawonogów (Humbert 1979), te dwa odcinki oddziela zastawka pyloryczna. Nabłonek jelita tylnego pokrywa kutikula, która może posiadać porowatą strukturę, umożliwiającą lepsze wchłanianie wody z resztek pokarmowych (Hubert 1981, Nardi i in. 2016a). Na granicy jelita środkowego i tylnego znajdują się ujścia cewek Malpighiego, odpowiedzialnych głównie za wydalanie zbędnych i szkodliwych metabolitów oraz osmoregulację (Hubert 1979a, b). Pareczniki posiadają silnie zwężone jelito tylne, w którym brak jest podziału na wyspecjalizowane odcinki (Koch i in. 2011). Kutikula pokrywająca jelito tylne jest cienka i nie tworzy struktur, takich jak wyrostki czy kolce.

Natomiast u przedstawicieli Diplopoda jelito tylne zróżnicowane jest na części o różnej morfologii, do których zalicza się odcinek pyloryczny (*pylorus*), jelito cienkie (*ileum*), jelito grube (*colon*) i jelito proste (*rectum*). U *Parajulus impressus* wyróżniono nawet sześć różnych części jelita tylnego (Hefner 1929). Jelito tylne *A. gigas*, podobnie jak u innych przedstawicieli rzędu Spirostreptida, takich jak *Orthoporus ornatus* (Nunez i Crawford 1977, Crawford i in. 1983) czy *Plusioporus setiger* (Fontanetti i Camargo-Mathias 1997), stanowi najdłuższy odcinek przewodu pokarmowego zwierzęcia. W obu badanych gatunkach granica pomiędzy jelitem środkowym a tylnym jest wyraźnie zaznaczona i rozbudowana w odcinek pyloryczny. U *A. gigas* odznacza się lekko rozdętym kształtem, natomiast u *J. scandinavicus* przyjmuje cylindryczną postać, zwężającą w kierunku dystalnym. Ten odcinek jelita tylnego dwuparców jest silnie umięśniony, a w jego wnętrzu mogą znajdować się kutikularne kolce, wyrostki czy szczeciny (Crawford i in. 1983, Miyoshi i in. 2005). Struktury te obecne u innych stawonogów, na przykład owadów, mogą odgrywać znaczącą rolę w filtrowaniu strawionych mas pokarmowych, zapewnieniu odpowiedniego ich ruchu, zapobieganiu cofania się, jak również mogą przyczyniać się do utrzymania właściwej flory symbiotycznych bakterii czy wpływać na zwiększanie wydajności resorpcji jonów i wody z resztek pokarmu (Schlüter 1980b, Crawford i in. 1983, Capman 1998, Elzinga 1998, Díaz i in. 2003). Część jelita, pomiędzy odcinkiem pylorycznym a jelitem prostym, odznacza się zmiennością gatunkową. Może być zróżnicowana na oddzielone od siebie, poprzez wgłębienie, jelito cienkie i grube, jak to ma miejsce u *Rhinocricus padbergi* (Fontanetti i in. 2015) czy *Orthoporus ornatus* (Crawford i in. 1983) lub być wykształcona w postaci histologicznie jednorodnej części (tak zwanej *ileum/colon*), jak

w przypadku *Urostreptus atrobrunneus* (Fontanetti i in. 2015). U *A. gigas* i *J. scandinavius* odcinek ten nie wykazuje anatomicznych różnic i jest prostą tubą, o podobnej grubości wzdłuż całej jego długości. W obu analizowanych gatunkach końcowy odcinek jelita tylnego jest stosunkowo krótki i silnie zwężony. Krótkie, ale wygięte na kształt fali jelito proste posiada *P. impressus* (Hefner 1929). W jelicie prostym ostatecznie formują się grudki kału. Podczas defekacji jelito proste może zostać wynicowane przez pokrywy analne zlokalizowane na telsonie (Hopkin i Read 1992). W jelicie tylnym dwuparców występują gruczoły pyloryczne (Schlüter 1980b), których wydzielina pokrywa wnętrze odcinka pylorycznego, wpływając na resorpcję wody, jak również gruczoły analne (Schlüter 1982, 1983), uchodzące do jelita prostego, których wydzielina odgrywa rolę w prawidłowym formowaniu kału oraz wytwarzaniu komór podczas linienia.

Opisana anatomia przewodu pokarmowego *A. gigas* i *J. scandinavius*, a w szczególności krótkie jelito przednie i znacznie dłuższe, zróżnicowane jelito tylne są charakterystyczne dla wszystkich wijów odżywiających się pokarmem pochodzenia roślinnego i martwą materią organiczną (Hopkin i Read 1992, Fontanetti i in. 2015). Przewód pokarmowy większości Diplopoda jest słabo przystosowany do spożywania pokarmu pochodzenia zwierzęcego i może przestać prawidłowo funkcjonować w przypadku nagłej zmiany diety (Schlüter 1980c).

5.2. Budowa histologiczna jelita środkowego

Jelito środkowe dwuparców utworzone jest z nabłonka otoczonego przez mięśnie poprzecznie prążkowane oraz komórki wątrobowe. Nabłonek jelita środkowego posiada różną budowę czy wysokość i zlokalizowany jest na bezkomórkowej błonie podstawnej, która również wykazuje dużą zmienność wśród różnych grup stawonogów. Wysokość nabłonka pozostaje w korelacji z wielkością i wiekiem zwierzęcia, ogólną budową jelita środkowego czy stopniem wypełnienia jelita masami pokarmowymi (Billingsley 1990). Nabłonek jelita środkowego wijów, jak również innych przedstawicieli Arthropoda, został sklasyfikowany jako nabłonek jednowarstwowy (Miley 1930, Bowen 1968b, Hecker 1977, Baker i in. 1984, Cioffi 1984, Francois i Graf 1988, Billingsley 1990, Baldwin i Hakim 1991, Icely i Nott 1992, Köhler i Alberti 1992, Srivastava 1997, Hung i in. 2000, Andrade-Coêlho i in. 2001, Nardi i Bee 2001, Camargo-Mathias i in. 2004, Woolfolk i in. 2004, Pigino i in. 2005, Martins i in. 2006,

Rost 2006a, b, Rost-Roszkowska i in. 2007a, b, c, 2008a, b, 2010a, b, c, d, e, f, 2012, Rost-Roszkowska 2008a, b, Filimonova 2008, 2009, Fialho i in. 2009, de Godoy i Fontanetti 2010, Hakim i in. 2010, Klann i Alberti 2010, Lipovšek i in. 2012, Mehrabadia i in. 2012, Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Fontanetti i in. 2015, Urbanek i Rost-Roszkowska 2015, Moreira-de-Sousa i in. 2016). Podobnie jest także w przypadku analizowanych gatunków *A. gigas* i *J. scandinavicus*, gdzie nabłonek jelita środkowego jest zbudowany z jednej warstwy komórek. Jednakże nie wszystkie komórki go tworzące dosięgają światła jelita, dlatego u przedstawicieli obu gatunków w jelicie środkowym stwierdzono nabłonek jednowarstwowy wielorzędowy. Przejawia się to w występowaniu komórek o różnej wysokości, których jądra także lokują się na różnych poziomach w nabłonku, przy zachowanym kontakcie każdej komórki z błoną podstawną. Podobną organizację nabłonka jelita środkowego dwuparców stwierdził Bowen (1968b) u przedstawicieli *Floridobolus penneri* i *Narceus gordanus*. Z danych literaturowych, w szczególności z ostatnich lat, wynika, że ten typ nabłonka może okazać się szeroko rozpowszechniony wśród wijów. Jego obecność zastała opisana w jelicie środkowym takich gatunków Myriapoda jak *Orthoporus ornatus* (Nunez i Crawford 1977), *Rhinocricus padbergi* (Camargo-Mathias i in. 2004), *Polyxemus lagurus* (Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015), *Telodeinopus aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015), *Urostreptus atrobrunneus* (Moreira-de-Sousa i in. 2016), *Lithobius forficatus* (Chajec 2012, Chajec i in. 2012), *Scolopendra cingulata* (Chajec 2012, Chajec i in. 2014).

Komórki budujące ścianę jelita środkowego stawonogów mogą przyjmować kształt cylindryczny, kostkowy lub płaski (Szklarzewicz i Tylek 1987, Lehane i Bilingsley 1996, Lehane 1998, Hung i in. 2000, Neves i in. 2003, Rost 2006a, b, Rost-Roszkowska 2008a, Hakim i in. 2010, Roelfstra i in. 2010, Rost-Roszkowska i in. 2010a, d, e, Urbanek i Rost-Roszkowska 2015), jednakże u większości zbadanych gatunków Myriapoda występują w postaci komórek cylindrycznych (Hopkin i Read 1992, Minelli 1993, Koch i in. 2011, Sosinka i in. 2014, Fontanetti i in. 2015). Również w obu analizowanych gatunkach większość komórek budujących nabłonek posiada wydłużony, walcowaty kształt, widoczny na poprzecznych przekrojach jelita środkowego. Podobnie jak u innych wijów, niezmienny w budowie nabłonek cylindryczny występuje na całej długości jelita środkowego *A. gigas* i *J. scandinavicus*, co wskazywać może na jednakowe wypełnianie fizjologicznych funkcji przez wszystkie obszary jelita środkowego w równym stopniu, na całej jego długości. Jak dotąd tylko w

przypadku gatunku *P. lagurus* zaobserwowano występowanie komórek o różnym kształcie w przedniej i tylnej części jelita środkowego (Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015), mogących wskazywać na zróżnicowanie jelita środkowego.

Ściana jelita środkowego stawonogów może być utworzona przez kilka typów komórek, które różnią się morfologią, ultrastrukturą i funkcją jaką pełnią. Wśród komórek tworzących nabłonek jelita środkowego Myriapoda wyróżnia się ich trzy typy: komórki trawienne (główne, absorpcyjne), regeneracyjne (generatywne) i wydzielnicze (Martin i Kirkham 1989, Hopkin i Read 1992, Camargo-Mathias i in. 2004, de Godoy and Fontanetti 2010, Nogarol i Fontanetti 2011, Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Fontanetti i in. 2015, Kszuk-Jendrysik 2015, Moreira-de-Sousa i in. 2016).

Komórki trawienne są dominującym typem wśród wszystkich komórek budujących nabłonek jelita środkowego Arthropoda, w tym również Myriapoda. Ten typ komórek odpowiedzialny jest za najważniejsze funkcje jelita środkowego, gdyż odgrywa kluczową rolę w syntezie i sekrecji (np. składników błony perytroficznej czy enzymów trawiennych), absorpcji, transporcie i magazynowaniu różnych substancji (Santos i in. 1986, Serrão i Cruz-Landim 1996a, Chapman 1998, Hung i in. 2000, Silva-Olivares i in. 2003, Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, James i Nation 2015, Urbanek i Rost-Roszkowska 2015). Tym samym odpowiedzialny jest za prawidłowe funkcjonowanie całego jelita środkowego podczas spełniania swych funkcji w organizmie. Komórki trawienne są podstawowym elementem budującym nabłonek jelita środkowego u *A. gigas* i *J. scandinavius*. Posiadają niezmienny, cylindryczny kształt wzdłuż całej długości jelita środkowego. U obu gatunków, w przekroju poprzecznym komórki te przyjmują postać wieloboczną o zaokrąglonych krawędziach.

Drugim typem komórek, których obecność stwierdzono u *A. gigas* i *J. scandinavius* są komórki regeneracyjne. W jelicie środkowym stawonogów mogą wykazywać cykliczną aktywność i być odpowiedzialne za procesy odnowy nabłonka podczas linienia czy przeobrażenia w dorosłą formę osobnika, jak również w sposób ciągły odtwarzać komórki nabłonka, które uległy uszkodzeniom. Uszkodzenia te mogą powstawać w wyniku mechanicznych urazów spowodowanych przemieszczającymi się masami pokarmu, reakcji na obecność toksyn czy patogenów w świetle jelita, jak również wskutek zmian związanych z wydzielaniem enzymów trawiennych. Procesy odnowy zachodzące przy udziale komórek regeneracyjnych mają więc znaczący wpływ na prawidłowe funkcjonowanie jelita środkowego przez cały okres życia zwierzęcia (James i Nation 2015).

Komórki regeneracyjne powszechnie występują w nabłonku jelita środkowego przedstawicieli poszczególnych grup stawonogów i są w nim różnie rozmieszczone. Niemniej jednak istnieją gatunki, u których w jelicie środkowym ten typ komórek wcale nie występuje (Billingsley i Lehane 1996, Rost-Roszkowska i Undrul 2008, Rost-Roszkowska i in. 2012). W nabłonku jelita środkowego stawonogów komórki regeneracyjne mogą tworzyć zgrupowania, zwane gniazdami, gdy występują pomiędzy komórkami nabłonka lub przybierać postać krypt regeneracyjnych, gdy części bazalne komórek regeneracyjnych uwypuklają się w stronę hemocelu (Raes i in. 1994, Hung i in. 2000, Nardi i Bee 2001, Rost 2006a, Martins i in. 2006, Rost-Roszkowska i in. 2007b, 2010c, d, e, Rost-Roszkowska 2008b, de Sousa i Conte 2013, Teixeira i in. 2013). U niektórych gatunków stawonogów mogą być również pojedynczo rozmieszczone pomiędzy innymi komórkami nabłonka (Rost 2006b, Rost-Roszkowska i in. 2010b, 2010f, Urbanek i Rost-Roszkowska 2015). W niektórych przypadkach usytuowanie komórek regeneracyjnych związane jest tylko z danym obszarem lub częścią jelita środkowego (Sonakowska i in. 2015). U wijów komórki regeneracyjne obserwowano rozmieszczone pojedynczo w nabłonku na całej długości jelita środkowego (Köhler i Alberti 1992, Fontanetti i in. 2001, Fantazzini i in. 2002, Camargo-Mathias i in. 2004, de Godoy i Fontanetti 2010, Nogarol i Fontanetti 2011, Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014), jak również, zwłaszcza u pareczników (Kaufman 1961a, Lewis 1981, Minelli 1993, Koch i in. 2011), skupione w grupy przypominające swą budowę krypty regeneracyjne opisane u przedstawicieli stawonogów, np. owadów. U *A. gigas* i *J. scandinavius* komórki regeneracyjne umiejscowione są tuż przy błonie podstawnej, pomiędzy bazalnymi częściami komórek trawiennych i rozmieszczone równomiernie w nabłonku wzdłuż całego jelita środkowego. U *J. scandinavius* mogą występować w niewielkich grupach, natomiast u *A. gigas* obserwowane były jako wyłącznie pojedyncze komórki sąsiadujące z komórkami trawiennymi. Gdy komórki te nie rozpoczęły jeszcze procesu różnicowania, charakteryzuje je podobny kształt i niewielkie rozmiary. Wśród przebadanych gatunków dwuparców komórki regeneracyjne o analogicznej budowie zostały znacznie częściej opisane niż w u przedstawicieli pareczników, u których komórki te mogą wykazywać odmienną morfologię w zależności od gatunku (Chajec 2012, Chajec i in. 2014).

Trzeci typ komórek budujących jelito środkowe Myriapoda to komórki wydzielnicze. Ich obecność została stwierdzona u kilku przebadanych gatunków wijów

należących do dwuparców (Camargo-Mathias i in. 2004, Sosinka i in. 2014, Fontanetti i in. 2015, Kszuk-Jendrysik 2015, Moreira-de-Sousa 2016) i pareczników (Balbini 1890, Rilling 1968, Lewis 1981, Minelli 1993, Vandenbulcke i in. 1998a, Chajec i in. 2012, 2014), u których występowały sporadycznie pomiędzy komórkami trawiennymi. Komórki te były natomiast częstym tematem analiz wśród gatunków należących do owadów, u których odpowiedzialne są za wydzielanie egzokrynowe i endokrynowe. Poprzez syntezę i sekrecję substancji o charakterze śluzowym mają za zadanie chronić i nawilżać powierzchnię jelita środkowego, jak również mogą przyczyniać się do zwiększania możliwości absorpcyjnych komórek nabłonka. Wytwarzając natomiast białkowe związki hormonalne odgrywają ważną rolę, wpływając na różne narządy i tkanki w organizmie. Kontrolują prawidłowe funkcjonowanie jelita środkowego, gdyż sterują procesami syntezy i sekrecji enzymów trawiennych, regulują ruchy perystaltyczne i wpływają na cykl komórkowy komórek regeneracyjnych (Chapman 1998, Punin i in. 2000, Neves i in. 2003). W nabłonku jelita środkowego stawonogów komórki wydzielnicze mogą być rozmieszczone w sposób równomierny, pojedynczo lub tworząc niewielkie skupiska (Montuenga i in. 1989, Gül i in. 2001). Czasami ich lokalizacja jest skorelowana z danym rejonem jelita środkowego lub innymi komórkami budującymi nabłonek, na przykład komórkami regeneracyjnymi (Montuenga i in. 1989, Raes i Verbeke 1994, Leite i Evangelista 2001, Neves i in. 2003). W przypadku większości przedstawicieli Myriapoda nie opisano takich zależności, a komórki wydzielnicze są rozmieszczone równomiernie w nabłonku (Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Moreira-de-Sousa i in. 2016). Podobnych obserwacji dotyczących lokalizacji komórek wydzielniczych dokonano u *A. gigas* i *J. scandinavius*.

5.2.1. Ultrastruktura i funkcje komórek trawiennych

Dominującymi komórkami występującymi w nabłonku jelita środkowego u *A. gigas* i *J. scandinavius* są komórki, które swą budową ultrastrukturalną przypominają komórki trawienne występujące w jelicie środkowym wijów z gromady Chilopoda (Minelli 2011), Diplopoda (Fontanetti i in. 2015) czy przedstawicieli innych grup stawonogów. Charakteryzują się typową regionalizacją w rozmieszczeniu organelli komórkowych, której przejawem jest podział cytoplazmy komórki na region bazalny, okołojądrowy i apikalny (Szklarzewicz i Tylek 1987, Billingsley 1990, Klag i in. 2002, Pigino i in. 2005, Rost 2006a, b, Rost-Roszkowska 2007b, Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Urbanek i Rost-Roszkowska 2015). W regionie bazalnym błona

komórkowa często tworzy wpuklenia na kształt labiryntu, pomiędzy którymi występują części cytoplazmy z organellami komórkowymi. Zlokalizowane w tym regionie liczne mitochondria, pomiędzy pofałdowaniami błony bazalnej, świadczą o udziale komórek trawiennych w aktywnym transporcie substancji, wody oraz jonów pomiędzy ich cytoplazmą a elementami położonymi poza nabłonkiem, na przykład ciałem tłuszczowym, hemolimfą czy, jak w przypadku Diplopoda, komórkami wątrobowymi (Billingsley i Lehane 1996, Camargo-Mathias i in. 2004, Sosinka i in. 2014). U obu analizowanych gatunków w regionie bazalnym występują liczne mitochondria, co wskazuje na duże zapotrzebowanie energetyczne występujące w tym regionie komórki. U *A. gigas* pofałdowania błony bazalnej są głębokie i występują w dużym zagęszczeniu, natomiast u *J. scandinavius* są niewielkie. Zaobserwowane różnice mogą wynikać z faktu, iż u *A. gigas* komórki trawienne stykają się z błoną podstawną mniejszą częścią w stosunku do powierzchni całej komórki, niż ma to miejsce u *J. scandinavius*, więc wzmożone pofałdowania błony umożliwiają zachodzenie procesów transportu substancji na odpowiednim poziomie. W regionie bazalnym *A. gigas* występują dodatkowo ciała lamellarne i pojedyncze pęcherzyki. Obecność tych struktur u innych gatunków stawonogów w tym regionie również wskazuje na zaangażowanie komórek trawiennych w aktywny transport substancji (Fialho i in. 2009).

U różnych przedstawicieli stawonogów region okołojądrowy charakteryzuje się występowaniem mniejszej ilości mitochondriów niż w pozostałych dwóch regionach cytoplazmy komórki. W regionie tym występują często zgromadzenia siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej, jak również wolne rybosomy czy rozbudowany aparat Golgiego. Występowanie dużych ilości wymienionych organelli komórkowych związane jest z syntetyzowaniem na terenie komórki różnych substancji, takich jak enzymy trawienne czy elementy błony perytroficznej. Również w przypadku analizowanych gatunków zaobserwowano występowanie wymienionych organelli komórkowych w regionie okołojądrowym. Jądro komórkowe komórek trawiennych u *A. gigas* i *J. scandinavius* najczęściej posiada charakterystyczny owalny kształt, często opisywany w komórkach tworzących nabłonek cylindryczny. U obu badanych gatunków jądra komórkowe przesunięte są w kierunku błony bazalnej, co sprawia, że największą część cytoplazmy zajmuje region apikalny. Takie rozmieszczenie jąder komórkowych w komórkach jelita środkowego nie jest charakterystyczne dla dwuparców (Fontanetti i in. 2015), jednakże u niektórych przedstawicieli wijów,

zarówno z gromady Diplopoda, jak i Chilopoda, opisano podobne ich ułożenie (Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015).

U przedstawicieli stawonogów w regionie apikalnym komórek stykających się ze światłem jelita środkowego błona komórkowa tworzy mikrokosmki, zwane rąbkami szczoteczkowym. Struktura ta znacznie zwiększa możliwości absorpcyjne komórek nabłonka. Zarówno u *A. gigas*, jak i u *J. scandinavicus* występują liczne, długie mikrokosmki. Dodatkowo u *A. gigas* struktury te od strony światła jelita pokrywa warstwa substancji o charakterze polisacharydowym. U przedstawicieli owadów na powierzchni nabłonka jelita występuje węglowodanowy glikokaliks składający się z proteoglikanów, glikoprotein i glikolipidów, który prócz swej ochronnej funkcji, wpływa na absorpcję składników pokarmowych, a także umożliwia koncentrację enzymów trawiennych. Węglowodanowy charakter wykazują również niektóre składniki błony perytroficznej, w której syntezie uczestniczą mikrokosmki. Dlatego dokładne określenie pochodzenia i funkcji zaobserwowanej u *A. gigas* polisacharydowej warstwy substancji, wymaga dodatkowych badań.

Lateralna błona komórkowa komórek trawiennych w regionie apikalnym u *A. gigas* tworzy pofałdowania opisane również u innych gatunków Myriapoda (Camargo-Mathias i in. 2004, Chajec 2012, Kszuk-Jendrysik 2015). Taka budowa nie występuje w komórkach *J. scandinavicus*. U *A. gigas* będzie prawdopodobnie związana ze wzmocnieniem wzajemnego przylegania sąsiednich komórek trawiennych, które są długie oraz wąskie, i w ten sposób będzie umożliwiać lepszą integrację nabłonka.

U niektórych przedstawicieli stawonogów, w tym również u wijów, bezpośrednio pod błoną apikalną występuje pas cytoplazmy, gdzie zlokalizowane są elementy aktynowe mikrokosmków, zwany „warstwą korową”. U *A. gigas*, podobnie jak u *J. scandinavicus* warstwa ta jest dobrze wykształcona i nie zawiera organelli komórkowych oprócz pojedynczych pęcherzyków, zlokalizowanych pomiędzy – wyraźnie widocznymi w mikroskopie elektronowym – korzeniami mikrokosmków. Natomiast w pozostałej części regionu apikalnego występuje nagromadzenie dużej ilości organelli komórkowych. Występują tutaj liczne pęcherzyki, ciała wielopęcherzykowe, ciała lamellarne i mitochondria, wskazujące na zachodzący w tym regionie aktywny transport. Ciała wielopęcherzykowe będą odpowiedzialne za magazynowanie i przemieszczanie substancji przeznaczonych do wydzielania, jak również substancji pobranych na drodze endocytozy (Piper i Katzmann 2007, Büning i in. 2008). Drugą ich prawdopodobną funkcją będzie magazynowanie, następnie

dostarczenie składników budujących błonę komórkową i uzupełnienie ubytków w niej powstających na skutek wydzielania komórkowego (Lehane 1998). Taką rolę będą też pełnić ciała lamellarne występujące w regionie apikalnym (Kszuk-Jendrysik 2015). Liczne mitochondria dostarczają natomiast niezbędnej energii wykorzystywanej w takich procesach jak sekrecja różnych substancji czy wchłanianie produktów trawienia. U większości owadów przyjmuje się, iż węglowodany i substancje tłuszczowe są wchłaniane na zasadzie biernej dyfuzji poprzez utrzymywaną różnicę stężeń danych substancji w komórkach trawiennych i hemolimfie. Natomiast substancje białkowe i aminokwasy mogą być absorbowane przy udziale różnych dróg aktywnego transportu wewnątrzkomórkowego (Lehane 1998). Transport pęcherzykowy jest natomiast wykorzystywany między innymi do translokacji makrocząsteczek pochodzenia zewnątrzkomórkowego, pozyskiwanych na drodze pinocytozy. U *A. gigas* zaobserwowano powstawanie dwóch rodzajów dołków w apikalnej błonie komórkowej pomiędzy mikrokosmkami, które mogą przedstawiać odmienne szlaki endocytozy. Pierwszy rodzaj inwaginacji apikalnej błony komórkowej to miseczkowaty dołek, który od strony cytoplazmy pokryty był elektronowo gęstą substancją. Dobrze poznanym białkiem, które może tworzyć wokół powstającego pęcherzyka strukturę w kształcie kosza, jest klatryna (Pearse 1976, Kłyszajko-Stefanowicz 2002). Ogranicza rozmiary powstającego wgłębienia i uczestniczy w późniejszym odłączeniu się pęcherzyka. Białko to posiada regularną budowę przestrzenną w postaci triskelionów i wraz z białkami adaptorowymi tworzy płaszcz klatrynowy. Dzięki tej strukturze zostaje ograniczony fragment błony przeznaczony na pęcherzyk, umożliwiona zostaje inwaginacja oraz pozyskanie białek odpowiedzialnych za wiązanie i polimeryzację aktyny (Robertson i in. 2009). Endocytoza zależna od klatryny jest powszechna we wszystkich eukariotycznych komórkach (Conner i Schmid 2003, Casartelli i in. 2008, McMahon i Boucrot 2011). Drugi rodzaj zaobserwowanych wpukleń w apikalnej błonie komórkowej *A. gigas* przyjmuje wydłużony kształt przypominający kolbę. Taką butelkowatą budową charakteryzują się kaweole, które mogą uczestniczyć w endocytozie niezależnej od klatryny. Skład białkowo-lipidowy tych mikrodomen jest odmienny od pozostałej części błony komórkowej, w szczególności odznacza się dużym udziałem cholesterolu i glikoprotein. Za zmianę morfologii i właściwości błony odpowiedzialne są specyficzne białka błonowe – kaweoliny, umożliwiające inwaginację błony i ekspansję wpuklenia (Conner i Schmid 2003, Parton i in. 2006, Kirkham i in. 2008, Kiss 2012). Uważa się, że kaweole zaangażowane są w proces endocytozy takich

związków jak glikofosfolipidy, białka połączone za pomocą GPI oraz ligandy, takie jak: kwas foliowy, albumina czy hormon wzrostu (Conner i Schmid 2003, Wojewódzka i in. 2005). Kaweoliny są uważane za białka o konserwatywnej budowie i wśród przedstawicieli Arthropoda zostały stwierdzone na przykład u *Apis mellifera* (Hexapoda) i *Artemia sinica* (Crustacea), jednak nie występują u *Drosophila melanogaster* (Kirkham i in. 2008, Li i in. 2014).

Pęcherzyki, obserwowane w warstwie korowej, mogą powstawać nie tylko poprzez endocytozę, ale również przy udziale aktywności aparatu Golgiego i cystern siateczki śródplazmatycznej, a w swoim wnętrzu mogą transportować różne substancje zsyntezowane w komórce i przeznaczone do wydzielania. W jelicie środkowym stawonogów stwierdzono cztery sposoby wydzielania: merokrynowe, mikroapokrynowe, apokrynowe, holokrynowe. Wydzielanie merokrynowe polega na fuzji pęcherzyków występujących w regionie apikalnym komórki z błoną komórkową i uwolnieniu sekretu do światła jelita. Ten sposób wydzielania jest powszechnie występujący u różnych grup stawonogów i związany między innymi z sekrecją enzymów trawiennych. Został również opisany u niektórych przedstawicieli wijów należących do Diplopoda (Hefner 1929, Deshmukh and Deshmukh 2011, Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015) i Chilopoda (Chajec i in. 2012, 2014). U *A. gigas*, jak i u *J. scandinavicus* w przeprowadzonych badaniach wydzielanie na drodze merokrynowej nie zostało potwierdzone. Jednakże obecność u tych gatunków w całym regionie apikalnym komórek trawiennych licznych pęcherzyków zawierających materiał o różnej gęstości elektronowej sugeruje, iż wydzielanie to może zachodzić w odpowiednich stanach fizjologicznych.

Stwierdzono natomiast występowanie u *A. gigas* i *J. scandinavicus* drobnych pęcherzyków wewnątrz mikrokosmków i odłączanie się ich w postaci pęcherzyków sekrecyjnych w szczytowych częściach mikrokosmków. Tak przedstawia się wydzielanie mikroapokrynowe opisane w jelicie środkowym przedstawicieli Arthropoda, w którego wyniku mogą powstawać drobne pęcherzyki okryte pojedynczą lub podwójną błoną (Humbert 1979, Fialho i in. 2009, 2012, Silva i in. 2013, Sosnakowska i in. 2015). Wśród przedstawicieli Myriapoda ten sposób wydzielania jak dotąd był rzadko opisywany (Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015). Natomiast u obu badanych gatunków sekrecja na drodze mikroapokrynowej była często pojawiającym się sposobem wydzielania, mogącym wskazywać na zaangażowanie w podstawowe funkcje pełnione przez nabłonek jelita środkowego. Silva i in. (2013)

stwierdzili obecność różnych białek w mikroapokrynowych pęcherzykach, również tych biorących udział w procesach trawienia czy budowie błony perytroficznej.

Trzeci z typów sekrecji, a mianowicie wydzielanie apokrynowe, charakteryzuje się powstawaniem uwypuklenia w błonie apikalnej, zawierającego materiał sekrecyjny wraz z cytoplazmą, które zostaje odseperowane od pozostałej części komórki i tworzy tzw. pęcherzyk sekrecyjny uwalniany do światła jelita. Ten typ wydzielania został potwierdzony w jelicie środkowym takich gatunków dwuparców jak *Urostreptus atrobrunneus* (Moreira-de-Sousa i in. 2016), *Telodeinopus aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015), *Polyxemus lagurus* (Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015), *Rhinocricus padbergi* (Fantazzini i in. 2002) czy *Plusioporus setiger* (Fontanetti i in. 2001). Przyjmuje się, że u niektórych stawonogów może być on związany z uwalnianiem enzymów trawiennych (Lehane 1998), jak również struktur komórkowych, które przemieszczają się do apokrynowego uwypuklenia komórki (Fontanetti i in. 2015). Ten rodzaj wydzielania występuje również w nabłonku jelita środkowego *J. scandinavius*, jednak nie był procesem często obserwowanym. Wnikliwa analiza histochemiczna pozwoliła na potwierdzenie u tego gatunku gromadzenia się substancji o charakterze białkowych, które zostają zsyntetyzowane w regionie okołojądrowym i transportowane do regionu apikalnego. Możliwe, iż substancje te są enzymami trawiennymi, które zostają wydzielone do światła jelita na drodze apokrynowej. Jednakże u stawonogów magazynowanie enzymów trawiennych jest rzadkim zjawiskiem, gdyż zazwyczaj są syntetyzowane w następstwie spożycia pokarmu (Billingsley 1990, Lehane 1998). Równie prawdopodobne jest, iż u badanego gatunku sekrecja ta związana jest z wydzielaniem innych substancji zgromadzonych w regionie apikalnym komórki. Wydzielanie apokrynowe nie było zaobserwowane u *A. gigas*.

Czwarty sposób sekrecji to wydzielanie holokrynowe, charakteryzujące się tym, iż cała komórka wraz z gromadzonymi na terenie jej cytoplazmy substancjami zostaje uwolniona do światła jelita, gdzie ulga rozpadowi. Hefner (1929) oraz Deshmukh i Deshmukh (2011) sugerowali, iż wydzielanie to zachodzi w jelicie środkowym dwuparców. Niektórzy badacze donoszą, iż wydzielanie holokrynowe może być mylone z renowacją nabłonka jelita środkowego, jednakże istnieją też dowody potwierdzające zawartość enzymów trawiennych w usuwanych komórkach (Agyei i in. 1991, Terra i Ferreira 2012). U *A. gigas* zaobserwowano usuwanie całych komórek do światła jelita, w których cytoplazmie zgromadzone były duże ilości granul. Komórki przedstawiały cechy morfologiczne komórek apoptotycznych, jednakże procesy wydzielania

holokrynowego mogą być realizowane również w takich komórkach (Liman i Alan 2013). Podczas zaobserwowanych zmian w nabłonku jelita środkowego *A. gigas* stwierdzono intensywne podziały mitotyczne komórek regeneracyjnych odpowiedzialnych za uzupełnianie powstałych ubytków w nabłonku. Wszystkie te obserwacje wskazują, iż u *A. gigas* proces ten jest powiązany z usuwaniem zbędnych substancji, jednakże bez odpowiednich znakowań wydzielania holokrynowego nie można całkowicie wykluczyć.

Sekrecja wydzielin jednego typu (w tym także enzymów trawiennych) w jelicie środkowym stawonogów może zachodzić tym samym sposobem lub za pośrednictwem różnych dróg wydzielania (Jordão i in. 1999, Cristofolletti i in. 2001). Również komórki o tej samej budowie ultrastrukturalnej mogą wydzielać różne substancje różnymi sposobami (Jarial 2005, Roelfstra i in. 2010). U *J. scandinavius* stwierdzono wydzielanie na drodze mikroapokrynowej i apokrynowej występujące w komórkach trawiennych na całej długości jelita środkowego. W przypadku *A. gigas* również stwierdzono wydzielanie mikroapokrynowe, aczkolwiek wskazując na znacznie większe rozmiary osobników i duże ilości przyjmowanego pokarmu, wydzielanie może wydawać się niewystarczająco efektywne. Skład biochemiczny wydzielanych substancji nie był obiektem niniejszych badań.

Komórki trawienne niektórych stawonogów, w tym również wijów, są zdolne do gromadzenia na terenie cytoplazmy różnych substancji: kul materiałów zapasowych, jonów niezbędnych pierwiastków, szkodliwych związków pochodzenia endogennego i egzogenego, w tym azotowych produktów przemiany materii czy metali ciężkich (Billingsley 1990, Hopkin i Read 1992, Koch i in. 2011, Fontanetti i in. 2015, Bacchetta i in. 2016). Substancje zapasowe w komórkach trawiennych magazynowane są w postaci ziaren glikogenu, kul białka, czy kropeł lipidowych widocznych w mikroskopie elektronowym w postaci granul o różnych rozmiarach i różnej gęstości elektronowej (Rost 2006b, Klann i Alberti 2010, Rost-Roszkowska i in. 2010d, Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014). U *A. gigas* i *J. scandinavius* również zaobserwowano występowanie licznych kul o charakterze cukrowym, tłuszczowym lub mieszanym, które potwierdzają udział komórek trawiennych w magazynowaniu substancji zapasowych u tych gatunków. Różnicą jest natomiast fakt, iż u *J. scandinavius* występuje magazynowanie substancji białkowych w postaci niewielkich kul, czego nie stwierdzono u *A. gigas*, pomimo spożywania podobnego rodzaju pokarmu, podobnej diety obu badanych gatunków: gatunki spożywają pokarm złożony głównie z

węglowodanów i ich dieta jest uboga w substancje białkowe. Prawdopodobnie różnica ta będzie wynikać z odmiennego zapotrzebowaniem na substancje odżywcze u tych dwuparców związanych z różnicami w wielkości ciała osobników. U *A. gigas*, który posiada znacznie większe rozmiary, dostarczane białka mogą być od razu metabolizowane i wykorzystywane przez organizm, więc nie dochodzi do ich gromadzenia. U innych stawonogów zaabsorbowane aminokwasy mogą zostać przetworzone, a powstałe produkty zgromadzone na terenie komórek trawiennych w postaci substancji tłuszczowych. Takie przemiany mogą być pomocne we wchłanianiu aminokwasów ze światła jelita (Lehane 1998). Zarówno u *J. scandinavius*, jak i *A. gigas* na terenie komórek trawiennych obserwowano występowanie materiałów tłuszczowych, więc niewykluczone, iż zamiana produktów hydrolizy białek na związki tłuszczowe zachodzi również na terenie nabłonka jelita środkowego tych gatunków.

Szkodliwe produkty przemiany materii zostają zgromadzone pod postacią struktur krystalicznych lub pęcherzyków, które często występują w jelicie środkowym stawonogów. U owadów niższych, pozbawionych cewek Malpighiego gromadzenie krystalicznych struktur wiąże się z mechanizmem wydalania szkodliwych związków azotowych u tych zwierząt (Humbert 1979, Szklarzewicz i Tylek 1987, Pigino i in. 2005). Struktury te, zwane urosferytami, usuwane są do światła jelita wraz z degenerującymi komórkami nabłonka. Również u stawonogów, posiadających organy wydzielnicze, występują struktury krystaliczne, które są miejscem gromadzenia i przechowywania związków różnych metali, w postaci fosforanów, węglanów czy chlorków (Köhler i Alberti 1992, Hopkin i Read 1992, Köhler 2002, Pigino i in. 2006, Bednarska i in. 2016). Ze względu na ich odmienną morfologię i różny skład chemiczny wyróżniono podział tych granul na trzy typy: A, B oraz C. Granule typu A przedstawiają koncentryczną budowę, a w ich wnętrzu mogą być gromadzone głównie takie metale jak wapń, magnez, cynk czy ołów. Granule typu B charakteryzują się elektronowo gęstym wnętrzem, które jest jednorodne. Skład granul typu B może przedstawiać obecność siarki oraz wielu metali ciężkich, takich jak rtęć, srebro, kadm, miedź oraz cynk. Trzeci rodzaj struktur (typ C) posiada drobnoziarnistą lub homogenną budowę i może zawierać żelazo, cynk i ołów (Hopkin i Read 1992, Köhler 2002). U *A. gigas* i *J. scandinavius* zaobserwowano obecność struktur swą budową przypominających granule typu A i podobnie jak u dwuparca *Urostreptus atrobrunneus* (Moreira-de-Sousa i in. 2016), występowały one w bliskim sąsiedztwie cystern siateczki śródplazmatycznej szorstkiej. Prawdopodobnie granule przypominające typ A u obu

analizowanych gatunków będą zawierały w swym składzie wapń i, tak jak u innych dwuparców, mogą świadczyć o udziale komórek trawiennych w transporcie tego pierwiastka oraz regulacji gospodarki jonowej (Hubert 1979b, Fantazzini i in. 2002, Fontanetti i in. 2015). U obu analizowanych gatunków w tych samych komórkach trawiennych są gromadzone również granule o odmiennej budowie, wypełnione homogennym, elektronowo gęstym materiałem. Ten drugi typ granul może zawierać zgromadzone metale ciężkie i być miejscem ich neutralizacji, chroniąc tym samym organizm przed ich toksycznym działaniem. U *J. scandinavius* ten typ granul był degradowany dzięki apoptozie oraz autofagii, czyli procesom umożliwiającym, między innymi, usuwanie szkodliwych czy zbędnych substancji z nabłonka. Udział procesów autofagii w usuwaniu z komórek trawiennych granul zawierających potencjalnie toksyczne związki został również stwierdzony u *P. lagurus* (Kszuk-Jendrysik 2015). U *A. gigas* sposobem wydalania z jelita środkowego granul, a tym samym różnych związków w nich zgromadzonych wydaje się być głównie usuwanie całych komórek trawiennych do światła jelita stwierdzone także u innych stawonogów (Hopkin i Read 1992, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010d, Fontanetti i in. 2015, Bednarska i in. 2016).

Ważną rolę we wzmocnieniu i utrzymaniu prawidłowej struktury nabłonka, a także jego uszczelnieniu pełnią występujące pomiędzy komórkami wyspecjalizowane połączenia międzykomórkowe. Pomagają one m. in. w utrzymaniu odpowiednich gradientów stężeń ułatwiających transport substancji w jelicie, ochronie przed wnikaniem patogenów, komunikacji pomiędzy sąsiednimi komórkami czy przytwierdzeniu komórek do błony podstawnej. W jelicie środkowym stawonogów opisano cztery typy połączeń międzykomórkowych: gładkie połączenia przegrodowe, desmosomy, hemidesmosomy połączenia przegrodowe i połączenia typu neksus (Pigino i in. 2005, Rost-Roszkowska i Undrul 2008, Rost-Roszkowska i in. 2010b). Wszystkie zaobserwowano również pomiędzy komórkami trawiennymi u *A. gigas* i *J. scandinavius*, w tym połączenia typu neksus, które dotychczas rzadko opisywano u krocionogów (Kszuk-Jendrysik 2015). Dodatkowo w błonie bazalnej komórek trawiennych zlokalizowane są hemidesmosomy umożliwiające połączenie z błoną podstawną nabłonka jelita. Ten rodzaj połączeń został zaobserwowany w jelicie środkowym wijów u takich gatunków jak *T. aoutii*, *P. lagurus* (Kszuk-Jendrysik 2015) czy *L. forficatus* (Chajec 2012).

Z danych literaturowych opisujących nabłonek jelita środkowego u Diplopoda wynika, iż komórki trawienne nazwane są komórkami absorpcyjnymi lub głównymi,

których funkcją jest wchłanianie substancji odżywczych, transport i magazynowanie różnych związków na terenie cytoplazmy. Badania ultrastrukturalne i histochemiczne wskazują, iż komórki te pełnią również funkcje wydzielnicze, w zależności od zapotrzebowania fizjologicznego organizmu (Bowen 1968b, Sosinka i in. 2014, Fontanetti i in. 2015, Moreira-de-Sousa i in. 2016). Opisana budowa ultrastrukturalna komórek, które dominują w nabłonku jelita środkowego zarówno u *A. gigas*, jak i u *J. scandinavicus* wskazuje na udział tych komórek zarówno w procesach absorpcji, magazynowania i transportu różnych substancji, jak też komórki te u tych gatunków mogą uczestniczyć w syntezie i wydzielaniu. Zbliżone funkcje w jelicie środkowym stawonogów pełnią komórki trawienne (Serrão i Cruz-Landim 1996a, Silva-Olivares i in. 2003, Koch i in. 2011, Chajec i in. 2012, 2014, Rost-Roszkowska i in. 2016b), dlatego również u analizowanych gatunków komórki te nazwane zostały komórkami trawiennymi.

5.2.2. Ultrastruktura komórek regeneracyjnych i przebieg procesu regeneracji

Komórki regeneracyjne wykazują znaczne podobieństwo pod względem swej budowy ultrastrukturalnej u wszystkich grup stawonogów. Charakteryzują się obecnością dużego jądra komórkowego zlokalizowanego zazwyczaj w centralnej części komórki, wokół którego rozmieszczona jest niewielka ilość organelli komórkowych. Głównymi, występującymi w elektronowo jasnej cytoplazmie, są mitochondria, które jako jedyne organelle mogą pojawiać się w większych ilościach. Poza nimi w komórkach tych stwierdzono obecność aparatu Golgiego, cystern siateczki śródplazmatycznej szorstkiej czy wolnych rybosomów (Billingsley 1990, Hung i in. 2000, Nardi i Bee 2001, Rost 2006a, Rost-Roszkowska i in. 2010c, d, e, Teixeira i in. 2013, Sonakowska i in. 2015). U niektórych gatunków wijów w komórkach regeneracyjnych mogą występować materiały zapasowe, a także autofagosomy (Rost-Roszkowska i in. 2017a). Własnością komórek regeneracyjnych jest również brak regionalizacji w rozmieszczeniu organelli komórkowych i niewykształcanie wpukleń błony bazalnej, które występują w komórkach trawiennych (Okuda i in. 2007, Teixeira i in. 2013). U niektórych gatunków stawonogów w komórkach regeneracyjnych stwierdzono obecność połączeń międzykomórkowych (Rost-Roszkowska i in. 2010c). Podobną budowę ultrastrukturalną komórek regeneracyjnych zaobserwowano również u obu analizowanych gatunków dwuparców. Pęcherzyki zawierające elektronowo jasny lub gęsty materiał najprawdopodobniej stanowiąc będą magazyn substancji zapasowych

wykorzystywanych do wysoce energochłonnych procesów związanych z podziałem oraz różnicowaniem. Natomiast wytwarzać niezbędną do tych procesów energię będą mitochondria, zgromadzone na terenie cytoplazmy komórek regeneracyjnych. Dodatkowo stwierdzono obecność u *J. scandinavius*, jak również u *A. gigas* ciał wielopęcherzykowych i lamellarnych w cytoplazmie ich komórek regeneracyjnych. Prawdopodobnie struktury te będą stanowić rezerwuuar niezbędnych elementów potrzebnych do odtwarzania i powiększania powierzchni błony komórkowej podczas podziałów, a zwłaszcza wzrostu i różnicowania komórki. U obu gatunków występują połączenia międzykomórkowe w postaci desmosomów punkowych stwierdzone również w komórkach regeneracyjnych dwuparca *T. aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015, Rost-Roszkowska i in. 2017a). Dodatkowo u *J. scandinavius* w błonie bazalnej występują hemidesmosomy. U tego gatunku nabłonek nie przedstawia aż tak zwartej budowy jak w przypadku *A. gigas*, gdyż pomiędzy tworzącymi go komórkami są obecne wolne przestrzenie międzykomórkowe. Występowanie hemidesmosomów w komórkach regeneracyjnych *J. scandinavius* najprawdopodobniej będzie mechanizmem wzmacniającym przytwierdzenie całego nabłonka do błony podstawnej.

Szczególną cechą komórek regeneracyjnych jest ich zdolność do podziału. Podziały komórkowe mogą zachodzić w sposób symetryczny, bądź asymetryczny (Hakim i in. 2001, Rost-Roszkowska i in. 2010a). Pierwszy z nich ma miejsce, gdy w wyniku mitozy powstają dwie takie same komórki, których późniejsze losy są podobne. W wyniku podziału symetrycznego komórki potomne mogą zatem pozostać komórkami regeneracyjnymi, zwiększając pulę komórek macierzystych, lub wspólnie mogą rozpocząć proces różnicowania. Za komórkę macierzystą uznaje się komórkę organizmu, która charakteryzuje się zdolnością do proliferacji, czyli samoodnawiania poprzez potencjalnie nieograniczoną możliwość podziału i do różnicowania w komórki potomne różnych typów (Hakim i in. 2010). Wśród komórek macierzystych wyróżnia się kilka ich rodzajów, które posiadają inny potencjał proliferacyjny i zdolność do różnicowania. Ze względu na zdolność do różnicowania się w jelicie środkowym wijów opisano na poziomie ultrastrukturalnym tylko komórki macierzyste unipotencjalne, które różnicują się w komórki trawienne (Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015). Wcześniejsze doniesienia wskazują na możliwość różnicowania się komórek regeneracyjnych we wszystkie typy komórek nabłonka (Lewis 1981). U *A. gigas* i *J. scandinavius* obserwowano podziały asymetryczne komórek regeneracyjnych. W wyniku tych podziałów jedna z komórek pozostawała

komórką regeneracyjną (macierzystą), natomiast druga wkraczała na drogę różnicowania w komórkę trawienną.

Przebieg samego procesu różnicowania jest również podobny do opisanego u innych przedstawicieli stawonogów, w tym również wijów (Rost 2006a, Rost-Roszkowska 2010f, Chajec i in. 2012, Sosinka i in. 2014). Komórka różnicująca się stopniowo zwiększa swe rozmiary i wydłuża się w stronę światła jelita. Tuż nad jej błoną szczytową dochodzi do wytworzenia wyraźnej przestrzeni zewnątrzkomórkowej, nazywanej wakuolą zewnątrzkomórkową. W ten sposób tworzona jest przestrzeń, do której mogą być formowane zawiązki mikrokosmków. Dochodzi do zwiększania liczby organelli komórkowych i wytworzenia typowej regionalizacji w ich rozmieszczeniu na terenie cytoplazmy. W wyniku zakończenia procesu różnicowania komórka taka jest zdolna do pełnienia wszystkich funkcji komórki trawiennej. Natomiast, nie obserwowano różnicowanie się komórek regeneracyjnych w komórki wydzielnicze. Przypuszczalnie u badanych gatunków brak ich odtwarzania będzie związany z położeniem samych komórek wydzielniczych w nabłonku. Ich lokalizacja blisko błony bazalnej i brak kontaktu ze światłem jelita może skutkować brakiem znacznych czynników stresowych, zaburzających ich funkcjonowanie (Chajec 2012). Przemawia za tym dodatkowo fakt, że śmierć komórkowa komórek wydzielniczych u *A. gigas* i *J. scandinavicus* nie była obserwowana. Takie stanowisko przyjmują również inni badacze (Chajec 2012, Kszuk-Jendrysik 2015). Różnicowanie się komórek regeneracyjnych w komórki trawienne, przy zachowaniu stałej puli komórek macierzystych w nabłonku badanych gatunków jest zgodne z doniesieniami o podziałach asymetrycznych komórek regeneracyjnych i ich unipotencjalnych zdolnościach do różnicowania w nabłonku jelita środkowego Myriapoda.

Procesy regeneracji w jelicie środkowym wijów, podobnie jak u innych stawonogów mogą zachodzić w sposób ciągły, w razie potrzeby zastępując degenerujące lub uszkodzone komórki w nabłonku, jak również w sposób okresowy związany z procesami linienia czy cyklami dobowymi (Rost-Roszkowska i in. 2007b). Przykładowo u gatunku *S. cingulata* stwierdzono regenerację w porach nocnych, czyli w czasie kiedy występuje fizjologiczna, wzmożona aktywność tych zwierząt i przyjmowanie pokarmu (Chajec i in. 2014). Komórki regeneracyjne tego gatunku podczas dnia występowały wyłącznie w interfazie. W nabłonku jelita środkowego *A. gigas* i *J. scandinavicus* podziały komórek regeneracyjnych były obserwowane o różnych porach dnia, mimo iż dwuparce te – podobnie jak *S. cingulata* – wykazują

nocny tryb życia. Najprawdopodobniej u tych gatunków regeneracja będzie zachodzić w sposób ciągły i będzie związana z takimi procesami jak detoksykacja, odpowiedź na ataki patogenów, odnowa w razie uszkodzeń mechanicznych nabłonka i wymiana komórek, które utraciły możliwość pełnienia swych funkcji, co sugerowane było przez Kszuk-Jendrysik (2015).

5.2.3. Ultrastruktura komórek wydzielniczych

Dane literaturowe opisujące komórki wydzielnicze stawonogów wskazują na występowanie dwóch ich typów budowy (Reinhardt 1976, Andriès 1976, Fujita i Kobayashi 1977, Raes i Verbeke 1994, Serrão i Cruz-Landim 1996b, Neves i in. 2003). Pierwszy z nich, szeroko rozpowszechniony u owadów, to typ otwarty, w którym komórki wydzielnicze posiadają taką samą wysokość jak komórki trawienne i kontaktują się ze światłem jelita, a ich błona apikalna tworzy mikrokosmki. Natomiast drugi typ, tak zwany zamknięty, odznacza się tym, iż komórki nie posiadają kontaktu ze światłem jelita. Obydwa typy komórek wydzielniczych mogą występować na terenie nabłonka jelita środkowego osobników jednego gatunku (Raes i Verbeke 1994, Neves i in. 2003).

Komórki wydzielnicze stawonogów odznaczają się dużym zagęszczeniem kulistych struktur w postaci ziarnistości o różnej gęstości elektronowej i/lub pęcherzyków z elektronowo jasnym wnętrzem. Jądro komórkowe najczęściej zlokalizowane jest blisko błony bazalnej, która nie wykazuje pofałdowań charakterystycznych dla komórek trawiennych. W zazwyczaj elektronowo jasnej cytoplazmie występuje rozbudowany aparat Golgiego, który zaangażowany jest w wytwarzanie obecnych w komórce granul. Pozostałe organelle komórkowe, takie jak mitochondria, cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej występują nielicznie (Brown i in. 1985, Serrão i Cruz-Landim 1996b, Lehane 1998, Sehnal i Žitňan 1996, Neves i in. 2003). Wśród stawonogów istnieją gatunki, u których opisano różne typy komórek wydzielniczych występujących w nabłonku jelita środkowego jednego osobnika, które wykazywały różnice w budowie ultrastrukturalnej (Lehane 1998). Stwierdzono także możliwość występowania wielu różnic w ultrastrukturze komórek wydzielniczych należących do poszczególnych typów (Andriès i Tramu 1985, Montuenga i in. 1989, Rost-Roszkowska i in. 2008b).

Wielu naukowców i zespołów badawczych stwierdza fakt istnienia komórek wydzielniczych w nabłonku jelita środkowego wijów, jednakże bez opisywania

szczegółów ich budowy (Balbiani 1890, Rilling 1968, Lewis 1981, Minelli 1993, Vandenbulcke i in. 1998a, Camargo-Mathias i in. 2004, de Godoy i Fontanetti 2010, Nogarol i Fontanetti 2011, Moreira-de-Sousa i in. 2016). Informacje o ultrastrukturze komórek wydzielniczych u wijów należących do Diplopoda (Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015, Rost –Roszkowska i in. 2017a) i Chilopoda (Chajec i in. 2012, 2014) są nieliczne i pochodzą dopiero z kilku ostatnich lat. Z badań tych wynika, iż wszystkie komórki wydzielnicze wijów są typu zamkniętego i wykazują znaczne podobieństwo ultrastrukturalne do komórek wydzielniczych innych stawonogów. Komórki wydzielnicze obserwowane u *A. gigas* i *J. scandinavius* także reprezentują typ budowy komórek „zamkniętych”. Błona bazalna nie tworzy typowych wpukleń, charakterystycznych dla komórek trawiennych. Cytoplazma odznacza się mniejszą gęstością elektronową niż sąsiednie komórki nabłonka. W komórkach gromadzone są liczne granule o różnej wielkości i gęstości elektronowej. U *A. gigas* zaobserwowano występowanie komórek wydzielniczych różniących się budową ultrastrukturalną. Jedne z nich charakteryzowały się regionalizacją w występowaniu organelli komórkowych, a w szczególności zgromadzonych granul. Drobne elektronowo gęste ziarnistości obserwowane były w regionie bazalnym komórki, natomiast znacznie większe kule o pośredniej gęstości elektronowej występowały nad jądrem komórkowym w regionie apikalnym, w sąsiedztwie ciał lamellarnych. Umieszczenie pierwszych granul wskazuje na sekrecję ich zawartości na drodze egzocytozy przez błonę bazalną do hemolimfy, czyli na udział tych komórek w wydzielaniu prawdopodobnie endokrynowym. Natomiast drugie z obserwowanych komórek wydzielniczych u *A. gigas* nie wykazywały różnic pomiędzy wielkością zgromadzonych granul, które były równomiernie rozłożone w cytoplazmie. Jądra komórkowe rzadko przyjmują charakterystyczne dla komórek wydzielniczych innych stawonogów bazalne położenie, a komórki kontaktują się z błoną podstawną poprzez wypustki. Komórki o podobnym kształcie, morfologii granul i lokalizacji organelli komórkowych stwierdzono u pareczników *L. forficatus* i *S. cingulata* (Chajec i in. 2012, 2014).

W przeciwieństwie do *A. gigas*, wszystkie obserwowane komórki wydzielnicze *J. scandinavius* reprezentują tylko jeden typ budowy ultrastrukturalnej pomimo, iż posiadają zmienny kształt. Odznaczają się dużą liczbą organelli komórkowych wskazujących na ich aktywny udział w syntezie i gromadzeniu materiału zamkniętego w granulach. Posiadają wykształcone połączenia międzykomórkowe w postaci desmosomów punktowych. Ten sam rodzaj połączeń występuje również w jednym z

typów komórek wydzielniczych *A. gigas*. Występowanie połączeń międzykomórkowych w komórkach wydzielniczych było rzadko stwierdzane wśród stawonogów (Leite i Evangelista 2001, Chajec 2012).

Jak dotąd nie odnotowano u przedstawicieli Myriapoda komórek wydzielniczych, które wykazywałyby tak znaczące różnice w budowie u jednego osobnika jak zaobserwowane u *A. gigas* (Chajec i in. 2012, 2014, Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015). Potwierdzenie, czy stwierdzona odmienność pomiędzy komórkami wydzielniczymi u *A. gigas* odzwierciedla różnice w składzie biochemicznym substancji gromadzonych przez nie w granulach, wymaga przeprowadzenia dodatkowych badań immunohistochemicznych. Istnieje bowiem możliwość, iż zaobserwowana odmienność budowy będzie wynikać z różnych stanów fizjologicznych tych samych komórek zaangażowanych w syntezę różnych substancji. Dalsze badania stwarzałyby również szansę na zdiagnozowanie, czy komórki wydzielnicze opisywane u obu gatunków są komórkami endokrynowymi, zaangażowanymi w wydzielanie hormonów.

5.2.4. Komórki otaczające nabłonek i ich udział w prawidłowym funkcjonowaniu jelita środkowego

Osobliwością gatunków należących do Diplopoda jest obecność komórek wątrobowych, które nie występują u innych stawonogów, w tym również u innych gromad wijów. Komórki te otaczają jelito środkowe, stanowiąc odrębny organ i nie są integralną częścią ani nabłonka jelita środkowego, ani ciała tłuszczowego, z którymi sąsiadują. Stwierdzono ich obecność u wielu przedstawicieli dwuparców, co wskazuje na powszechność ich występowania (Seifert i Rosenberg 1977, Hubert 1979a, b, 1988, Köhler i Alberti 1992, Köhler i in. 1995, Hopkin i Read 1992, Fantazzini i in. 2002, Camargo-Mathias i in. 2004, de Godoy i Fontanetti 2010, Nogarol i Fontanetti 2010, 2011, Sosinka i in. 2014, Fontanetti i in. 2015, Kszuk-Jendrysik 2015, Moreira-de-Sousa i in. 2016, Nardi i in. 2016b, Rost-Roszkowska i in. 2017a, b). Istnieją jednak gatunki, u których nie obserwowano występowania komórek wątrobowych, a ich funkcjonalną rolę może spełniać ciało tłuszczowe wraz z nabłonkiem jelita środkowego (Kszuk-Jendrysik 2015, Rost-Roszkowska i in. 2017b). Pod względem pełnionych funkcji komórki wątrobowe są porównywane z komórkami wątrobotrzustki stawonogów czy tkanką chloragogenową dżdżownic (Hopkin i Reead 1992, Fontanetti i in. 2015, Moreira-de-Sousa i in. 2016). Przyjmuje się, iż pełnią ważną rolę w

organizmie poprzez zaangażowanie w magazynowanie różnych substancji oraz w procesy prowadzące do detoksykacji. Nardi i in. (2016b) przypuszczają nawet, iż mogą przyczyniać się do zwiększenia żywotności dwuparców.

Dane literaturowe dotyczące budowy komórek wątrobowych wskazują na brak połączeń pomiędzy tymi komórkami i ich luźne ułożenie, przez co nie tworzą ciągłej warstwy. Także wyniki tej pracy potwierdzają taką formę organizacji rozmieszczenia komórek wątrobowych. U *A. gigas* komórki wątrobowe występują pojedynczo, natomiast u *J. scandinavius*, podobnie jak u *Glomeris marginata* (Köhler i Alberti 1991) zaobserwowano ich ułożenie bardziej zwarte. Pod względem ultrastrukturalnym odznaczają się elektronowo jasną cytoplazmą, w której występuje duża ilość mitochondriów, jak również mogą w niej być zlokalizowane małe wakuole, wolne rybosomy, granule i autofagosomy. Wewnątrz komórki występuje nieznaczna ilość siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i aparaty Golgiego (Fontanetti i in. 2015). Niektóre doniesienia stwierdzają obecność substancji otaczającej każdą komórkę wątrobową (Köhler i Alberti 1991, Nardi i in. 2016b, Rost-Roszkowska i in. 2017b), co zostało także zaobserwowane podczas tej pracy w postaci pojedynczej błony u *J. scandinavius*. Jak się okazuje jest to błona podstawna, którą każda komórka wątrobową jest otoczona (Nardi i in. 2016b, Rost-Roszkowska i in. 2017b). Błona komórek wątrobowych u obu analizowanych gatunków wykazywała pofałdowania zaobserwowane również u *T. aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015). U tego ostatniego dwuparca stwierdzono występowanie połączeń komunikacyjnych typu neksus pomiędzy komórkami wątrobowymi a komórkami ciała tłuszczowego, wskazujące na wymianę substancji. Natomiast u obu badanych gatunków nie stwierdzono żadnych wyspecjalizowanych połączeń międzykomórkowych. Jednakże występujące pomiędzy inwaginacjami błony komórek wątrobowych mitochondria mogą sugerować aktywny transport substancji pomiędzy komórkami, a otaczającym je środowiskiem hemocelu, co sugerowane było także przez innych badaczy (Fontanetti i in. 2015).

Kształt komórek wątrobowych jest różny i związany z wytwarzaniem wypustek cytoplazmatycznych skierowanych w stronę nabłonka jelita środkowego. Wypustki te wchodzą pomiędzy mięśnie wisceralne i penetrują błonę podstawną nabłonka. Posiadają palczaste zakończenia występujące w bliskim sąsiedztwie pofałdowań błony bazalnej wyłącznie komórek trawiennych (Hubert 1988, Köhler i Alberti 1992, Nogarol i Fontanetti 2010, Sosinka i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015, Nardi i in. 2016b). Podobnie u *A. gigas* i *J. scandinavius* nie stwierdzono kontaktowania się komórek wątrobowych z

komórkami regeneracyjnymi czy wydzielniczymi. Wypustki cytoplazmatyczne komórek wątrobowych przedstawicieli obu analizowanych gatunków, podobnie jak *T. aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015), zawierają mitochondria i liczne elementy cytoszkieletu, a palczaste zakończenia wypustek wchodzi pomiędzy pofałdowania błony bazalnej komórek trawiennych. Taka morfologia i ultrastruktura wskazuje na udział tych komórek w transporcie substancji, które zostają zaabsorbowane z komórek trawiennych, zgromadzone na terenie cytoplazmy komórek wątrobowych i zgodnie z zapotrzebowaniem organizmu, mogą być wydzielane do krwi (Hubert 1988, Hopkin i Read 1992, Nardi i in. 2016b).

Cechą charakterystyczną komórek wątrobowych otaczających jelito środkowe dwuparców jest zdolność do gromadzenia w cytoplazmie dużej ilości glikogenu. U obu analizowanych gatunków na terenie cytoplazmy komórek wątrobowych występowały liczne ziarna glikogenu. Glikogen w tych komórkach może pochodzić z przemiany produktów trawienia pochodzących z komórek trawiennych. Poprzez zgromadzenie glikogenu mogą wypełniać funkcję magazynowania substancji odżywczych wykorzystywanych jako źródło energii podczas okresów głodzenia (Seifert i Rosenberg 1977, Hopkin i Read 1992, Fontanetti i in. 2015). U *J. scandinavius* wykazano, iż na terenie komórek wątrobowych zgromadzony zostaje również materiał zapasowy o charakterze białkowym i białkowo-polisacharydowym, który najprawdopodobniej będzie stanowił dodatkowy rezerwuuar substancji zapasowych. Natomiast u *A. gigas* nie stwierdzono obecności materiału zapasowego w postaci białka na terenie cytoplazmy komórek wątrobowych. Brak odkładania tego materiału zapasowego może być związany z nieobecnością substancji o charakterze białkowym w komórkach trawiennych tego gatunku, co stwierdzono również u *T. aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015).

W komórkach wątrobowych często występują różne granule czy sferyty. Substancje w nich zgromadzone mogą być związkami szkodliwymi, na przykład metalami ciężkimi. W ten sposób komórki wątrobowe, podobnie jak komórki trawienne jelita będą uczestniczyły w procesach detoksykacji organizmu (Köhler i Alberti 1992, Hopkin i Read 1992, Köhler 2002, Nogarol i Fontanetti 2010, 2011, Perez i Fontanetti 2011, Merlini i in. 2012). Struktury te mogą również zawierać substancje niezbędne do prawidłowego funkcjonowania organizmu, takie jak na przykład wapń, które będą wykorzystywane podczas linienia do odbudowy oskórka lub w innych stanach zapotrzebowania na dane związki (Moreira-de-Sousa i in. 2016). Tym samym komórki wątrobowe mogą uczestniczyć w regulacji gospodarki mineralnej organizmu.

Najprawdopodobniej podobne znaczenie ma gromadzenie granul o różnej gęstości elektronowej na terenie komórek wątrobowych *A. gigas* i *J. scandinavius*, jednakże skład granul nie został w niniejszych badaniach poddany analizie. Stwierdzono natomiast, iż u *J. scandinavius* materiał zgromadzony w granulach zostaje strawiony w procesie autofagii.

Opisana budowa ultrastrukturalna komórek trawiennych u *A. gigas* i *J. scandinavius* potwierdza funkcję akumulowania materiałów zapasowych i wskazuje na ich udział w aktywnym transporcie substancji. Niektóre zaobserwowane szczegóły budowy komórek wątrobowych odznaczały się dużym podobieństwem do zmian zachodzących u osobników narażonych na działanie substancji szkodliwych (Köhler i Alberti 1992, Nogarol i Fontanetti 2010, da Silva Souza i in. 2014). Wymienić tu należy silne pofałdowanie błony komórkowej, gromadzenie elektronowo gęstych granul czy występowanie dużych wakuoli w cytoplazmie komórek wątrobowych. Gatunki odżywiają się pokarmem, w którym akumulacja substancji szkodliwych jest wysoce prawdopodobna. Pomimo prowadzonej hodowli nie można wykluczyć narażenia tych zwierząt na działanie toksycznych związków występujących w ich naturalnym środowisku. W tkankach wijów odkładane substancje toksyczne i związane z nimi zmiany ultrastrukturalne mogą występować przez długi okres po ekspozycji na szkodliwy czynnik (da Silva Souza i in. 2014). Wobec tego można przypuszczać, iż komórki wątrobowe badanych gatunków będą odgrywać również rolę w detoksykacji organizmu.

W bliskim sąsiedztwie nabłonka jelita, pomiędzy komórkami wątrobowymi i komórkami ciała tłuszczowego u Diplopoda mogą występować hemocyty (da Silva Souza i Fontanetti 2011, Nogarol i Fontanetti 2011, Perez i Fontanetti 2011, Merlini i in. 2012, da Silva Souza i in. 2014, Moreira-de-Sousa i in. 2016). Komórki te są upostaciowanymi składnikami hemolimfy stawonogów. Wśród wijów występują również u przedstawicieli Chilopoda, u których mogą migrować z hemocelu przez błonę podstawną na teren nabłonka jelita środkowego (Chajec i in. 2012, 2014). Komórki te w organizmach stawonogów odgrywają ważną rolę w wielu procesach, takich jak wzajemne rozpoznawanie się komórek, odpowiedź immunologiczna, fagocytoza mikroorganizmów czy wirusów. Uczestniczą również w mechanizmie krzepnięcia hemolimfy po uszkodzeniu oskórka i naruszeniu ciągłości tkanek, a także w procesach gojenia się ran. Na terenie ich cytoplazmy syntetyzowane i magazynowane są różnego rodzaju substancje, m. in. związki o działaniu antybakteryjnym, lektyny,

hemolizyny czy enzymy oksydazy fenolowej (Hopkin i Read 1992, Xylander 1992, 2009a, b, Xylander i Nevermann 1993, Xylander). Hemocyty różnią się morfologią i pełnioną funkcją, w związku z tym sklasyfikowano różne ich typy. U wijów stwierdzono występowanie sześciu z nich, a mianowicie prohemocytów, plazmocytów, granulocytów, sferulocytów, oenocytów, adipocytów (Ravindranath 1973, Hopkin i Read 1992, Xylander 2009b).

Zaobserwowane u *A. gigas* hemocyty występowały pomiędzy komórkami wątrobowymi, pod włóknami mięśni wisceralnych. Nie obserwowano ich obecności w bezpośrednim kontakcie z błoną podstawną nabłonka jelita środkowego, ani na jego terenie. Wszystkie hemocyty wykazywały tą samą morfologię i pod względem ultrastruktury podobne były do granulocytów, charakteryzujących się gromadzeniem na terenie ich cytoplazmy licznych granuli o nieregularnym kształcie i różnej gęstości elektronowej (Xylander 2009b).

Wśród innych gatunków dwuparców w pobliżu nabłonka jelita środkowego również gromadzą się hemocyty należące do granulocytów. Zaobserwowano zależność pomiędzy wzmożonym ich występowaniem w pobliżu jelita środkowego a reakcją osobników na działanie szkodliwych substancji, w tym metali ciężkich. Wskazuje się, iż przyczyną tego zjawiska jest stan zapalny, spowodowany degeneracją komórek. Gromadzenie się granulocytów w najbliższym sąsiedztwie jelita środkowego u *A. gigas* będzie najprawdopodobniej reakcją na zachodzące w obrębie jelita zmiany związane z usuwaniem do światła jelita całych grup komórek trawiennych z gęsto upakowanymi granulami na terenie ich cytoplazmy oraz z często obserwowanym u tego gatunku procesem nekrozy. U przedstawicieli gatunku *J. scandinavius*, gdzie w jelicie środkowym znacznie rzadziej występuje nekroza, nie stwierdzono również hemocytów w bliskim sąsiedztwie tego narządu.

5.3. Mikroorganizmy w jelicie środkowym

Detrytusożerni przedstawiciele Arthropoda poprzez zasiedlane środowisko i rodzaj spożywanego pokarmu mają stały kontakt z różnorodną mikroflorą, występującą w powierzchniowych warstwach gleby. Główne źródło pożywienia tych stawonogów takie jak ściółka, butwiejące liście, padlina lub inne formy martwej materii organicznej pochodzenia zwierzęcego czy roślinnego, będące w różnym stadium mikrobiologicznego i fizykochemicznego rozkładu, są silnie zasiedlane przez

mikroorganizmy. Wśród mikroorganizmów, które wraz ze spożywanym pokarmem trafiają do przewodu pokarmowego stawonogów, mogą występować organizmy symbiotyczne, jak i pasożyty (Lewis 1981, Sakwa 1974, Singotam i Dass 1977, Ball 1982, Ball i Pittilo 1983, Crawford i in. 1983, Upton i in. 1983, Ball i Burgoyne 1992, Moss i Taylor 1996, Gaino i Rebora 2001, Clopton 2002, Martínez-Girón i in. 2009, Gigliolli i in. 2016). Przewód pokarmowy stanowi bowiem dobre środowisko dla bytowania różnych zespołów drobnoustrojów, gdyż zapewnia stały dostęp do pokarmu, odpowiednie pH czy wilgotność. Mikroorganizmy dostarczane wraz z pokarmem mogą być również zjadane, stanowiąc dla stawonoga źródło substancji odżywczych, takich jak łatwo dostępne aminokwasy czy witaminy (Hopkin i Read 1992, Tajovsky 1992, Szabo i in. 1992, Hooper i Gordon 2001, König i Varma 2006, Nardi i in. 2016a).

W przewodzie pokarmowym stawonogów stwierdzono obecność wielu organizmów symbiotycznych należących do m. in. archeonów, bakterii, grzybów czy pierwotniaków. Uważa się, iż korzyści z obecności tych mikroorganizmów w przewodzie pokarmowym gospodarza dotyczą przede wszystkim usprawnienia procesów trawienia i ochrony przed niektórymi patogenami (Crawford i in. 1983, Kaufman i Klug 1991, Hopkin i Read 1992, Tajovsky 1992, Dillon i Charnley 2002, Brugerolle i Radek 2006, Byzov 2006, Nardi i in. 2006, Ramanathan i Alagesan 2012, Alagesan 2016). Mikroorganizmy obecne w jelicie dostarczają niezbędne enzymy hydrolizujące trudne do trawienia związki takie jak celuloza, lignina, hemicelulozy czy pektyny, często obecne w pokarmie roślinożerców. Mogą również brać udział w wewnętrznej gospodarce związków azotu u stawonogów. Korzystną dla organizmu mikroflorę stwierdzono również w przewodzie pokarmowym wijów. U Chilopoda bakterie symbiotyczne mogą występować wewnątrzkomórkowo, w cytoplazmie komórek trawiennych jelita środkowego (Chajec i in. 2012, 2014). Obecność symbiotycznych mikroorganizmów potwierdzono u licznych gatunków Diplopoda, u których występują głównie w jelicie tylnym (Crawford i in. 1983, Nardi i in. 2016a). Zasadlają zwłaszcza zróżnicowaną powierzchnię kutikuli wytwarzanej przez komórki nabłonka jelita tylnego. Ich liczba na terenie jelita przedniego i środkowego jest zdecydowanie mniejsza: występują zazwyczaj w świetle jelita lub przytwierdzone do błony perytroficznej jelita środkowego. Istnieje również hipoteza, iż przewód pokarmowy nie stanowi siedliska dla większości mikroorganizmów, a dwuparce zjadają np. niektóre szczepy bakterii i wykorzystują ich enzymy do trawienia pokarmu roślinnego (Byzov 2006). U *A. gigas* i *J. scandinavius*, zarówno w świetle jelita

środkowego, jak i w cytoplazmie komórek nabłonka, nie obserwowano mikroorganizmów, których cechy (np. powszechność występowania) mogłyby stanowić o zjawisku symbiozy. Aby mikroorganizmy występujące na terenie nabłonka jelita środkowego można było uważać za endosymbionty, koniecznym byłoby stwierdzenie ich obecności w większości lub części komórek tworzących nabłonek u ponad 70% osobników danej populacji (Rost-Roszkowska i in. 2010f). Podobne obserwacje poczyniono u dwuparców *P. lagurus* i *T. aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015), u których w jelicie środkowym również nie stwierdzono obecności endosymbiontów.

Występujące wewnątrz ciała przedstawicieli Myriapoda mikroorganizmy, którym przypisuje się rolę pasożytniczą, to najczęściej wirusy, bakterie, grzyby, riketsje, apikompleksy, orzęski, nicienie, a także niektóre gatunki pijawek czy muchówek (Singotam i Dass 1977, Lewis 1981, Ball 1982, Ball i Pittilo 1983, Hopkin i Read 1992, Moss i Taylor 1996). Pozbawione kutikuli jelito środkowe stawonogów stanowi miejsce ataku wielu patogenów, gdyż pokonując tę barierę mogą dostać się do wnętrza organizmu. Niektóre z mikroorganizmów patogennych charakterystyczne są dla konkretnej grupy wijów, inne natomiast były często obserwowane w przewodzie pokarmowym różnych gatunków.

Mikroorganizmy zaobserwowane u analizowanych w tej pracy dwuparców występowały u około 10% przebadanych osobników z gatunku *A. gigas* i u około 5% z gatunku *J. scandinavicus*. Tak niewielka ilość osobników, u których stwierdzono obecność jednokomórkowców w jelicie środkowym, może wskazywać na pasożytniczą formę współżycia tych organizmów (Rost-Roszkowska i in. 2010f). U obu badanych gatunków mikroorganizmy występowały zarówno w świetle jelita, jak również wewnątrz komórek trawiennych nabłonka. Analiza ich budowy morfologicznej w mikroskopie świetlnym i elektronowym wykazała duże podobieństwo do gregaryn, które są częstymi endopasożytami różnych grup stawonogów (Singotam i Dass 1977, Lewis 1981, Gaino i Rebora 2001, Clopton 2002, Martínez-Girón i in. 2009, Błaszak 2012, Gigliolli i in. 2016). W świetle jelita *A. gigas*, jak również na terenie cytoplazmy komórek nabłonka obserwowano podzielone ciała mikroorganizmów, wskazujące na segmentowane części trofozoidu gregaryn: epimeryt, protomeryt i deutomeryt. Największą część stanowił deutomeryt, wewnątrz którego obserwowano centralnie położone jądro komórkowe. Mikroorganizmy charakteryzowały się dobrze wykształconą pellikulą formującą powierzchniowe fałdy oraz licznymi granulami z polisacharydowym i białkowym materiałem zgromadzonym w cytoplazmie. Podobne

formy występowały w świetle jelita *J. scandinavicus*. Natomiast formy życiowe obserwowane na terenie nabłonka u tego gatunku najprawdopodobniej były wczesnymi etapami rozwoju formy wegetatywnej gregaryn - trofozoidu, który rozwijał się po wnikięciu sporozoidu do wnętrza komórki trawiennej. Gregaryny charakteryzuje złożony i nieraz słabo poznany cykl rozwojowy, a niektóre gatunki tych pierwotniaków są uważane za komensale lub nawet organizmy przynoszące korzyści zainfekowanemu gospodarzowi (Valigurová 2012). Dokładne określenie gatunków mikroorganizmów występujących w przewodzie pokarmowym analizowanych dwuparców wymagałoby przeprowadzenia specyficznych testów, które nie były uwzględnione podczas niniejszej pracy.

5.4. Procesy degeneracji w jelicie środkowym

Obumieranie komórek, podobnie jak ich proliferacja i różnicowanie się, jest ważnym naturalnym procesem zachodzącym w każdym organizmie wielokomórkowym. Zjawisko to stanowi kluczowy czynnik niezbędny do prawidłowego przebiegu wielu procesów fizjologicznych, warunkujący prawidłowe funkcjonowanie organizmu i zachowanie jego homeostazy. Śmierć komórkowa umożliwia usunięcie z organizmu zbędnych komórek, które zostały uszkodzone, zmutowane lub zainfekowane patogenami (Stępień i in. 2007, Rudnicka i in. 2011).

W jelicie środkowym stawonogów procesy degeneracji komórek są ściśle związane z ciągłą lub cykliczną regeneracją nabłonka. Mogą dotyczyć zmian, zachodzących podczas cyklów linienia czy przeobrażenia (np. owadów), oraz być naturalną konsekwencją pełnienia przez jelito środkowe fizjologicznych funkcji związanych z trawieniem, magazynowaniem i wydalaniem. Zachodzą w wyniku następstw mechanicznych i chemicznych uszkodzeń lub stanowią składową reakcji obronnych na ataki patogenów. Zakres degeneracji nabłonka jelita środkowego może różnić się w zależności od czynnika, którym ta degeneracja jest spowodowana. Podczas linienia, proces ten obejmuje wszystkie komórki nabłonka, które zostają na nowo odtworzone w wyniku podziałów mitotycznych komórek regeneracyjnych; natomiast degeneracja ciągła dotyczy pojedynczych komórek nabłonka (Hubert 1979a, Humbert 1979, Hopkin i Read 1992, Pigino i in. 2005, Martins i in. 2006, Rost 2006a, b, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010d, f, Sonakowska i in. 2016). W obu przypadkach komórki zostają odseparowane od błony podstawnej i wyrzucone do światła jelita. Dane

literaturowe wzmiankujące o śmierci komórkowej w nabłonku jelita środkowego wijów wskazują, iż czynnikami inicjującymi wzmożoną degenerację komórek tego nabłonka u Myriapoda mogą być substancje toksyczne, patogeny, jak również uszkodzenia organelli komórkowych i komórek czy procesy linienia (Balbiani 1890, Hubert 1979b, Lewis 1981, Hopkin i Read 1992, Minelli 1993, de Godoy i Fontanetti 2010, da Silva Souza i Fontanetti 2011, Nogarol i Fontanetti 2011, Perez i Fontanetti 2011, Chajec 2012, da Silva Souza i in. 2014, Rost-Roszkowska i in. 2016a).

W zależności od rodzaju i intensywności czynnika inicjującego śmierć komórki, jak również od typu obumierających komórek, degeneracja może zachodzić różnymi mechanizmami obumierania. Spośród różnych do tej pory opisanych typów śmierci komórkowej w narządach stawonogów najczęściej spotyka się apoptozę, autofagię i nekrozę (Bowen 1968a, Vaidyanathan i Scott 2006, Tettamanti i in. 2007, Rost-Roszkowska 2008a, b, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010a, c, d, e, f, 2015a, 2016a, Park i in. 2009, Hakim i in. 2010, Malagoli i in. 2010, Bryant i Raikhel 2011, Chajec 2012, Franzetti i in. 2012, Wilczek i in. 2014, Zhang i Hua 2014, Kszuk-Jendrysik 2015, Bednarska i in. 2016, Sonakowska i in. 2016, Suwansa-Ard i in. 2016). Te trzy typy śmierci komórkowej zostały również opisane w jelicie środkowym wijów (Chajec 2012, Kszuk-Jendrysik 2015, Rost-Roszkowska i in. 2015a, 2016a). Podobnie u *A. gigas* i *J. scandinavius* zaobserwowano degenerację nabłonka jelita środkowego zachodzącą na drodze tych mechanizmów obumierania.

5.4.1. Autofagia

Autofagia jest ewolucyjnie konserwatywnym procesem autokatabolicznym występującym w komórkach wszystkich organizmów eukariotycznych. Uważana jest za programowaną śmierć komórki typu drugiego, pozostającą pod ścisłą kontrolą odpowiednich genów i białek (głównie z grupy Atg), nie wywołującą stanu zapalnego w tkankach (Malagoli i in. 2010, Bauckman i in. 2015, Borek i in. 2015, Denton i in. 2015, Suwansa-Ard i in. 2016). Jest również strategią przeżycia, gdyż pozwala na utrzymanie homeostazy komórki podczas występowania niekorzystnych czynników. W wyniku tego procesu usuwane są z cytoplazmy zbędne, uszkodzone, nieprawidłowo wytworzone lub zużyte elementy strukturalne komórki, takie jak organelle komórkowe, białka lub inne makrocząsteczki (Mijaljica i in. 2012, Anding i Baehrecke 2015, Bauckman i in. 2015, Rost-Roszkowska i in. 2015b). Autofagia ma również duże znaczenie w usuwaniu wewnątrzkomórkowych patogenów i zaabsorbowanych toksyn,

chroniąc organizm przed ich negatywnym wpływem na funkcjonowanie tkanek i narządów. Autofagia zachodzi na terenie cytoplazmy komórki zarówno w stanach fizjologicznych, jak i patologicznych. Jednak w optymalnych warunkach, przy dostarczaniu odpowiedniej ilości składników odżywczych proces autofagii utrzymuje się na niskim poziomie. Proces ten zostaje nasilony poprzez narażenie komórek na czynniki stresowe takie jak głodzenie, niedotlenienie, nagromadzenie toksyn, wysoka temperatura, czy infekcja. Autofagia pozwala na dostarczenie komórce produktów, które zostaną ponownie wykorzystane w celu odbudowy potrzebnych cząstek lub wytworzenia niezbędnej energii. Funkcją autofagii jest więc niedopuszczenie do nagromadzenia w komórkach niepotrzebnych, często szkodliwych związków, zmienionych czy uszkodzonych jej fragmentów, jak również udział w recyklingu makrocząsteczek i możliwość pozyskania nowych źródeł energii, co skutkuje utrzymaniem homeostazy komórki i ochroną przed degeneracją, np. na drodze apoptozy (Shen i Codogno 2012, Anding i Baehrecke 2015). Z drugiej strony, proces autofagii poprzez degradację wszystkich organelli komórkowych, może doprowadzić do śmierci komórki, jak ma to miejsce w sytuacjach wzmożonej degeneracji, np. podczas przeobrażenia owadów (Tracy i Baehrecke 2013, Nelson i Baehrecke 2014, Denton i in. 2015).

Autofagia umożliwia strawienie wybranych elementów komórkowych poprzez działanie enzymów zawartych w lizosomach, zdolnych do degradacji białek, kwasów nukleinowych, tłuszczu i węglowodanów. Ze względu na sposób dostarczenia zbędnych fragmentów komórki do lizosomów wyróżnia się trzy różne typy autofagii: mikroautofagię, autofagię zależną od chaperonów oraz makroautofagię (Mijaljica i in. 2012, Borek i in. 2015). Mikroautofagia charakteryzuje się pochłanianiem cytozolu na drodze endocytozy przez lizosomy. Niewielkie fragmenty cytoplazmy wraz z elementami strukturalnymi komórki, takimi jak pojedyncze organelle komórkowe czy białka, poprzez inwaginację błony lizosomalnej dostarczone zostają do wnętrza lizosomu, gdzie ulegają hydrolizie. Drugi typ autofagii polega na trawieniu pojedynczych białek cytozolowych, które dostarczone zostają do lizosomu przy udziale białek opiekuńczych z rodziny hsp 70, czyli chaperonów należących do białek szoku termicznego. W wyniku istnienia w błonie lizosomalnej specjalnych receptorów rozpoznawalnych przez białka opiekuńcze, białko przeznaczone do degradacji zostaje dostarczone do lizosomu. W translokacji tego białka do wnętrza organelum uczestniczy

drugi chaperon, znajdujący się wewnątrz lizosomu (Cuervo i Wong 2014, Borek i in. 2015).

Najczęściej spotykaną w komórkach, a tym samym najlepiej poznaną formą autofagii jest makroautofagia, dla uproszczenia dalej nazywana autofagią. Proces ten dotyczy degradowania organelli komórkowych i białek o długim okresie półtrwania w tak zwanych autolizosomach. Makroautofagia zostaje zapoczątkowana poprzez otaczanie podwójną błoną białkowo-lipidową, czyli fagoforem, fragmentów cytoplazmy wraz z przeznaczonymi do degradacji makrocząsteczkami, fragmentami siateczki śródplazmatycznej, aparatu Golgiego czy jądra komórkowego, jak również całymi organellami, takimi jak mitochondria czy peroksysomy. Błony izolujące rozrastają się na kształt pęcherzyka w procesie zwanym dojrzewaniem fagoforu, w konsekwencji czego elementy cytoplazmatyczne zostają zamknięte wewnątrz wakuoli autofagicznej (autofagosomu). Pochodzenie składników błon, dzięki którym następuje elongacja fagoforu nie jest jednoznaczne. Przyjmuje się, iż uczestniczyć w tworzeniu tej struktury mogą takie organelle jak cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej i szorstkiej (po uprzedniej utracie rybosomów) lub aparat Golgiego. Za źródło pochodzenia błon fagoforu wskazuje się również błonę komórkową, zewnętrzną błonę mitochondriów czy otoczkę jądrową (Mari i in. 2011, Mijaljica i in. 2012, Tooze 2013). W dalszym etapie makroautofagii przy udziale mikrotubul autofagosom zostaje połączony z lizosomem, a w wyniku tej fuzji powstaje autolizosom. W jego wnętrzu przy udziale enzymów hydrolitycznych zostają strawione zgromadzone elementy przeznaczone do degradacji. Proces makroautofagii stwierdzony został u wielu gatunków bezkręgowców (Bowen 1968a, Tettamanti i in. 2007, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010a, 2012, 2013, 2015a, Bryant i Raikhel 2011, Franzetti i in. 2012, Sonakowska i in. 2016, Suwansa-Ard i in. 2016). Również w przypadku analizowanych gatunków wijów *A. gigas* i *J. scandinavicus* obserwowano w komórkach makroautofagię, przebiegającą w opisany powyżej sposób, a więc z wytworzeniem fagoforu, autofagosomu, autolizosomu.

W komórkach nabłonka jelita środkowego stawonogów obserwowano powstawanie autofagosomów w bliskim sąsiedztwie aparatów Golgiego, jak również siateczki śródplazmatycznej wskazując, iż właśnie te organelle mogą uczestniczyć w tworzeniu błon fagoforu (Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010f, 2012, 2015b). Podobnie w komórkach *A. gigas* i *J. scandinavicus* powstające autofagosomy znajdowały się w sąsiedztwie m. in. cystern siateczki śródplazmatycznej szorstkiej czy gładkiej. Jednakże równie często umiejscowione były w pobliżu mitochondriów i błony komórkowej, co

może sugerować na udział również tych elementów komórkowych w tworzeniu autofagicznych błon izolujących. Wydłużającym się błonom fagoforu towarzyszyły liczne pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu oraz ciała wielopęcherzykowe, najprawdopodobniej dostarczające fragmentów błon do powstającego autofagosomu. Natomiast jak wiadomo pochodzenie tych struktur może być różne, dlatego nie można wykluczyć również udziału aparatów Golgiego w tworzeniu autofagosomu, pomimo braku ich bezpośredniego sąsiedztwa. Prawdopodobnie u tych gatunków udział we wzroście fagoforu będą wykazywać równocześnie różne elementy komórkowe. Aby definitywnie stwierdzić jakie jest pochodzenie tych błon, koniecznym jest wykonanie w przyszłości badań immunohistochemicznych, umożliwiających zlokalizowanie odpowiednich białek z rodziny Atg, co jednak nie było obiektem niniejszych badań.

Ze względu na rodzaj organelli komórkowych zamykanych we wnętrzu autofagosomów, proces autofagii można podzielić na dwa typy: selektywny i nieselektywny. W przypadku tego pierwszego, we wnętrzu autofagosomu zostają zamknięte struktury czy organelle komórkowe jednego typu, a nazwa samego procesu będzie związana z ich rodzajem (Cebollero i in. 2012, Mijaljica i in. 2012, Bauckman i in. 2015, Borek i in. 2015, Nakatogawa i Mochida 2015). Wyróżnia się wiele typów autofagii selektywnej, np. mitofagia będzie dotyczyła trawionych mitochondriów, lipofagia – materiału tłuszczowego, nukleofagia – fragmentów jądra komórkowego, retikulofagia – cystern siateczki śródplazmatycznej, ksenofagia – mikroorganizmów czy innych obcych obiektów, rybofagia – wolnych rybosomów, peroksyfagia – peroksysomów, lizofagia – lizosomów. Natomiast podczas autofagii nieselektywnej, błonami fagoforu zostają otoczone różne uszkodzone organelle komórkowe, które później zostają równocześnie trawione. W komórkach nabłonka jelita środkowego obu badanych gatunków w większości autofagosomów były izolowane i degradowane różne struktury komórkowe, takie jak elementy siateczki śródplazmatycznej gładkiej i szorstkiej, pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu, mitochondria, ciała lamellarne, krople lipidowe, wolne rybosomy. Można więc stwierdzić, iż często zachodzącym procesem u obu analizowanych gatunków na terenie komórek trawiennych, a w przypadku *J. scandinavicus* również w cytoplazmie komórek wydzielniczych, jest autofagia nieselektywna, która będzie dostarczać niezbędnych składników odżywczych czy energii. Jednakże na terenie niektórych obserwowanych autofagosomów przeważał jeden rodzaj degradowanych organelli, takich jak mitochondria, fragmenty jądra komórkowego czy cysterny siateczki śródplazmatycznej. Organelle te mogą być

degradowane u organizmów eukariotycznych na drodze autofagii selektywnej. W związku z tym u badanych dwuparców proces ten można rozpatrywać jako autofagię wybranych elementów komórki, która będzie pełnić najprawdopodobniej ważną rolę w usuwaniu zbędnych czy zużytych składników komórki, warunkując prawidłowe funkcjonowanie i utrzymanie homeostazy.

W jelicie środkowym badanych gatunków obserwowano kilka typów autofagosomów, które izolowały w przewodzie jeden rodzaj elementów komórki. Autofagosomy ze zgromadzonymi w ich wnętrzu mitochondriami obserwowano w komórkach trawiennych u *A. gigas*. Szczególnie istotne dla prawidłowego funkcjonowania komórki jest usuwanie mało wydajnych czy uszkodzonych mitochondriów, gdyż przeciwdziała to rozprzestrzenianiu się reaktywnych form tlenu, niekorzystnie wpływających na funkcjonowanie całej komórki. Takie działanie może chronić również przed apoptozą, poprzez uniemożliwienie uwolnienia czynników ją indukujących z mitochondriów. Istnieją doniesienia wskazujące na udział mitochondriów w procesach apoptozy także u bezkręgowców (Ligeza-Żuber i Boguś 2014), a u niektórych gatunków potwierdzono, iż uwolnienie z tych organeli cytochromu c aktywuje kaspazy efektorowe (Shan i in. 2009, Huang i in. 2013). Na tej podstawie przypuszczać można, iż u *A. gigas* trawienie mitochondriów będzie uczestniczyć w utrzymaniu długiego, prawidłowego funkcjonowania komórek trawiennych i może wyjaśniać obserwowaną, mniejszą intensywność procesów apoptotycznych w porównaniu z *J. scandinavicus*. Na terenie cytoplazmy komórek trawiennych *A. gigas* obserwowano także autofagosomy zawierające m. in. fragmenty jądra komórkowego. Nukleofagosomy o podobnej budowie morfologicznej opisano już w nabłonku jelita środkowego wijów, a mianowicie u parecznika *S. cingulata* (Chajec 2012, Rost-Roszkowska i in. 2015a). Uważa się, iż nukleofagia pozwala na usunięcie uszkodzonych lub nieużywanych fragmentów jądra komórkowego, przy zachowaniu jego pełnej funkcjonalności (Mijaljica i in. 2012, Nakatogawa i Mochida 2015). Jednakże uważa się też, iż proces ten może być przejawem obumierania komórki. U *A. gigas* komórki zawierające nukleofagosomy nie wykazywały cech morfologicznych wskazujących na rozpoczęcie procesów prowadzących do ich śmierci. Degradowanie fragmentów jądra komórkowego może zatem świadczyć o eliminacji zmutowanych cząsteczek DNA, powstałych na skutek np. działania substancji toksycznych. Innym rodzajem autofagosomów, obserwowanych w komórkach trawiennych obu analizowanych gatunków, były struktury autofagiczne, zawierające znaczne ilości

cystern siateczki śródplazmatycznej. Retikulofagia indukowana jest różnymi czynnikami (Cebollero i in. 2012, Mandl i in. 2013, Borek i in. 2015) i zazwyczaj trudno wskazać jej bezpośrednią przyczynę. Wśród wielu czynników wymienia się również stres chemiczny. W związku z tym, występowanie autofagosomów z fragmentami siateczki śródplazmatycznej u *A. gigas* i *J. scandinavius* może być związane z reakcją na szkodliwe substancje przedostające się do komórek trawiennych ze światła jelita, jednakże może mieć też inne przyczyny, np. związane z degradacją nieprawidłowo wytworzonych białek lub pozyskaniem substancji odżywczych.

Autofagia obserwowana w komórkach wątrobowych u obu badanych gatunków dotyczyła izolowania w głównej mierze gromadzonego w cytoplazmie tych komórek elektronowo gęstego materiału, najprawdopodobniej zawierającego szkodliwe dla organizmu związki. Można zatem przypuszczać, iż będzie to główny proces wspomagający komórki trawienne w pełnieniu ich detoksykacyjnej funkcji w organizmie. Autofagosomy zawierające w swym wnętrzu granule i sferyty ze zgromadzonymi potencjalnie toksycznymi substancjami, stwierdzono również na terenie komórek trawiennych *J. scandinavius*. Podobną strategię w jelicie środkowym dwuparców opisano u *P. lagurus* (Kszuk-Jendrysik 2015), co świadczy, iż u tych gatunków autofagia będzie odgrywać dużą rolę w neutralizacji szkodliwych substancji w nabłonku jelita środkowego i warunkować przeżycie komórki. Dodatkowo, autofagia w komórkach wątrobowych badanych dwuparców, będzie także odpowiedzialna za trawienie glikogenu, który magazynowany jest na terenie cytoplazmy tych komórek. Produkty rozkładu glikogenu mogą być ponownie transportowane do komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego, a także do hemocelu (Nardi i in. 2016b).

W wyniku działalności enzymów hydrolitycznych dochodzi do strawienia zawartości autolizosomów, a pozostałości po tym procesie mogą być gromadzone na terenie cytoplazmy komórek w postaci ciał resztkowych. Usuwanie tych struktur z nabłonka jest ważne, gdyż przeciwdziała powstawaniu stanu zapalnego. W jelicie środkowym stawonogów ciała resztkowe są usuwane do światła jelita różnymi sposobami, a mianowicie poprzez błonę komórkową, jak również na drodze apoptozy i nekrozy komórek nabłonka (Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010b, 2010f, 2012, 2015b). U *J. scandinavius* autofagosomy, autolizosomy i ciała resztkowe zostają zgromadzone w regionie apikalnym komórek trawiennych, gdzie poprzez fuzję z błoną komórkową usuwają swą zawartość do światła jelita. Struktury powstałe w procesie autofagii są również usuwane wraz z całymi komórkami na drodze apoptozy. Często te dwa procesy

są ze sobą powiązane. Najprawdopodobniej autofagia będzie w tym przypadku, jak już wspomniano, strategią przeżycia komórki. Natomiast u *A. gigas* nie stwierdzono gromadzenia się ciał resztkowych w bliskim sąsiedztwie błony apikalnej komórek trawiennych. Przeprowadzone obserwacje wskazują, iż struktury te będą usuwane z nabłonka wyłącznie poprzez procesy nekrozy oraz w mniejszym stopniu wraz z komórkami apoptotycznymi.

Podsumowując, proces autofagii zachodzący w komórkach nabłonka u obu gatunków obserwowany był na terenie całego nabłonka jelita i nie jest związany z konkretnym jego odcinkiem. Intensywność tego procesu jest podobna u badanych dwuparców i wydaje się być strategią przeżycia, pozwalającą wyeliminować uszkodzone lub wysłużone organelle komórkowe, umożliwiając komórkom wydajne pełnienie swych podstawowych funkcji. Będzie również związana z dostarczeniem produktów do pozyskiwania dodatkowej energii i utrzymaniem homeostazy poszczególnych komórek. Procesy autofagii zachodzące w komórkach wątrobowych, a u *J. scandinavicus* również w komórkach trawiennych, będą w głównej mierze pełniły funkcję ochronną przed szkodliwymi substancjami, jak też umożliwią dostarczenie energii.

5.4.2. Apoptoza

Apoptoza jest wykształconym w toku ewolucji procesem umożliwiającym utrzymanie w równowadze liczby komórek i kontrolowanie ich jakości w różnych tkankach zwierzęcych. Nazywana jest programowaną śmiercią komórkową typu I, w której w pewnym momencie jej przebiegu, w odróżnieniu od autofagii, los komórki jest przesądzony, a mianowicie kończy się unicestwieniem komórki. Jest niezbędnym procesem, pomagającym utrzymać homeostazę tkankową poprzez eliminację nieprawidłowych komórek bez wywoływania stanu zapalnego w obrębie narządu, jak również pełni ważną rolę podczas rozwoju zarodkowego (Stępień i in. 2007, Ameisen 2010, Cooper i Mitchel-Foster 2011). Jest procesem genetycznie zaprogramowanym, uporządkowanym i precyzyjnie kontrolowanym przez inhibitory i aktywatory, w którym główną rolę destrukcyjną pełnią cysteinowe proteazy – kaspazy. Większość z nich produkowana jest w komórce i przechowywana w postaci nieaktywnych proenzymów, które mogą być aktywowane kaskadowo w momencie zainicjowanego procesu apoptozy. Każda komórka posiada zestaw genów, które umożliwiają jej samounicestwienie. Jednak sam proces inicjujący i wykonawczy może się różnić u

bezkęgowców i kręgowców czynnikami biorącymi w nim udział oraz kolejnością zdarzeń (Ligęza-Żuber i Boguś 2014). Wśród czynników indukujących ten rodzaj śmierci komórkowej wymienia się: działanie chorobotwórczych lub pasożytniczych patogenów i ich produktów, wpływ toksycznych związków (w tym metali ciężkich), działanie różnego rodzaju promieniowania czy temperatury, zaburzenia hormonalne, podwyższony poziom wolnych rodników tlenowych, brak substancji odżywczych lub czynników wzrostu.

Apoptoza jest często opisywanym procesem zachodzącym w jelicie środkowym stawonogów (Vaidyanathan i Scott 2006, Okuda i in. 2007, Rost-Roszkowska 2008a, b, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010b, c, d, e, f, 2015a, 2016a, Park i in. 2009, Chajec 2012, Franzetti i in. 2012, Khoa i in. 2012, Teixeira i in. 2013, Wilczek i in. 2014, Kszuk-Jendrysik 2015, Sonakowska i in. 2016). Odgrywa ważną rolę w rozwoju tego narządu, utrzymaniu jego homeostazy, jak również zaangażowana jest w szereg procesów związanych ze stanami patologicznymi. Wskazuje się, iż zachodzi podczas pełnienia przez jelito środkowe podstawowych czynności, takich jak trawienie oraz odgrywa znaczącą rolę w przebudowie tego narządu podczas metamorfozy u niektórych owadów (Uwo i in. 2002, Hakim i in. 2010, Franzetti i in. 2012, Khoa i in. 2012, Romanelli i in. 2016). Apoptoza komórek jego nabłonka jest także włączana podczas narażenia organizmu stawonoga na działanie szkodliwych substancji, głodu czy patogenów (Okuda i in. 2007, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2016a, Park i in. 2009). U obu badanych gatunków procesy apoptozy zachodzą w sposób ciągły na terenie całego nabłonka jelita środkowego. W jelicie środkowym *A. gigas* obserwowano usuwanie komórek apoptotycznych z licznymi granulami na terenie ich cytoplazmy, co może mieć związek z procesami detoksykacyjnymi lub wydzielniczymi u tego gatunku, jak już wyżej przedstawiono. Pomimo to, apoptoza jest procesem rzadko zachodzącym w jelicie środkowym tego gatunku, w mniejszym stopniu odpowiedzialnym za usuwanie z nabłonka niepotrzebnych lub zmienionych komórek. Natomiast u *J. scandinavius* programowana śmierć komórkowa typu I była często obserwowanym zjawiskiem i u tego gatunku będzie procesem odgrywającym kluczową rolę w usuwaniu zbędnych lub uszkodzonych komórek z nabłonka bez wywoływania stanu zapalnego. Dane literaturowe wielokrotnie wskazują na istniejące w jelicie środkowym stawonogów powiązanie procesów apoptozy i autofagii (Franzetti i in. 2012, Romanelli i in. 2016), którą to zależność stwierdzono również u *J. scandinavius*. Obecność u tego gatunku w komórkach apoptotycznych licznych autofagosomów, autolizosomów i ciał

resztkowych sugeruje, iż w momencie, gdy zmiany w komórce, dotyczące uszkodzeń organelli czy nagromadzenia substancji szkodliwych, są na tyle duże, iż procesy autofagii „nie są w stanie sobie z nimi poradzić”, zostaje zainicjowany proces apoptozy. U *A. gigas* i *J. scandinavius* nie stwierdzono zależności pomiędzy występowaniem patogenów na terenie jelita środkowego a programowaną śmiercią komórkową. Wśród osobników badanych gatunków, które były zainfekowane patogenami, nie obserwowano nasilenia się procesów apoptotycznych w porównaniu ze zdrowymi osobnikami, jak również morfologicznych zmian zainfekowanych komórek, wskazujących na ten proces.

W jelicie środkowym stawonogów stwierdzono, iż apoptotyczną śmiercią unicestwiane są różne typy komórek nabłonka (Tettamanti i in. 2007, Park i in. 2009), jednakże u wijów zaobserwowano apoptozę wyłącznie komórek trawiennych (Chajec 2012, Kszuk-Jendrysik 2015, Rost-Roszkowska i in. 2016a). Wyniki tej pracy wskazują, iż u analizowanych dwuparców programowana śmierć komórki typu I dotyczy tylko komórek trawiennych. Nie obserwowano apoptozy innych komórek nabłonka, czyli komórek regeneracyjnych i komórek wydzielniczych, jak również nie stwierdzono jej w komórkach wątrobowych.

Ulegające apoptozie komórki wykazują szereg charakterystycznych zmian biochemicznych i morfologicznych świadczących o ich obumieraniu drogą programowanej śmierci komórkowej typu I. W wyniku działania aktywowanych endonukleaz dochodzi do specyficznego cięcia nici DNA w ściśle określonych miejscach, a działające proteazy degradują jądrowe i cytoszkietowe białka (Park i in. 2009, Rudnicka i in. 2011). Jądro komórkowe zmienia kształt na płatowaty oraz może dojść do jego fragmentacji, a chromatyna jądrowa ulega kondensacji i marginalizacji. Dochodzi do reorganizacji elementów cytoszkietu komórki. Komórka na skutek utraty wewnątrzkomórkowej wody i elektrolitów ulega obkurczeniu. Skutkuje to powstawaniem przestrzeni międzykomórkowych, zmianą gęstości elektronowej jej cytoplazmy na elektronowo gęstą, jak również ciasnym upakowaniem organelli komórkowych. Zmiany morfologiczne zachodzą również w obszarze samych organelli komórkowych. Mitochondria i cysterny siateczki śródplazmatycznej ulegają transformacji; poprzez utratę swej fizjologicznej budowy tworzą błoniaste struktury (Rost-Roszkowska 2008a, b, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010b, c, d, e, f, 2015a). Na skutek otwarcia się porów w zewnętrznej błonie mitochondrialnej, przez które zostaje uwolniony np. cytochrom c, dochodzi do spadku potencjału transbłonowego

mitochondriów. Następuje obrzmienie tych organelli i zanik grzebieni mitochondrialnych, a wnętrze tych organelli staje się elektronowo jasne. W błonie komórkowej zmienia się rozmieszczenie fosfolipidów i dochodzi do ekspozycji fosfatydyloseryny na jej zewnętrznej powierzchni (Nagata i in. 2016). Obumierająca komórka traci kontakt z blaszką podstawną i zanikają połączenia międzykomórkowe z sąsiednimi komórkami, co umożliwia jej usunięcie z nabłonka. Pozostające komórki trawienne wytwarzają pomiędzy swoimi błonami nowe połączenia, zachowując integralność nabłonka (Rost-Roszkowska 2008b, Rost-Roszkowska i in. 2010c, d).

Opisane wyżej zmiany w ultrastrukturze komórek apoptotycznych obserwowano również u obu badanych gatunków. Jedną z pierwszych, najszybciej spostrzeganych cech jest silna kondensacja cytoplazmy, znacząco odróżniająca elektronowo gęste komórki apoptotyczne od pozostałych komórek trawiennych. Budowa mitochondriów ulega zmianie, a ich wnętrze odznacza się pośrednią gęstością elektronową. U *J. scandinavicus* siateczka śródplazmatyczna ulega nabrzmieniu i silnemu zagęszczeniu na terenie cytoplazmy. Natomiast u *A. gigas* dodatkowo stwierdzono jej rozcięcie i tworzenie licznych pęcherzyków oraz drobnych wakuol w całej cytoplazmie. Zmiany te obserwowano u tego gatunku zwłaszcza w obumierających komórkach ze znaczną ilością zgromadzonych w ich wnętrzu elektronowo gęstych granul. U obu gatunków dochodzi do kondensacji chromatyny i zmiany kształtu jądra komórkowego na nieregularny i płatowaty. Fragmentację jądra komórkowego w komórkach apoptotycznych przed ich usunięciem z nabłonka udokumentowano u *A. gigas*. Kontakt komórek apoptotycznej z sąsiednimi komórkami nabłonka zostaje długo utrzymany, podobnie jak np. u jednego z gatunków owadów *Acheta domesticus* (Rost-Roszkowska i in. 2010a). Komórka apoptotyczna zostaje wypchnięta do światła jelita poprzez tworzenie się nowych połączeń międzykomórkowych w sąsiednich komórkach trawiennych, jak również poprzez zastępujące ją komórki regeneracyjne, które weszły na drogę różnicowania.

Końcowy etap apoptozy, w którym komórka zostaje wyeliminowana z nabłonka może przebiegać z różnymi modyfikacjami. Komórka apoptotyczna może zostać w całości wypchnięta do światła jelita (Okuda i in. 2007, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010c, d, 2015a, 2016a, Chajec 2012, Kszuk-Jendrysik 2015). Czasami dochodzi do fragmentacji komórki, poprzez odseparowanie pączków apoptotycznych, czyli otoczonych błoną komórkową części cytoplazmy z degenerującymi organellami, które mogą zostać sfagocytowane przez komórki nabłonka (Pipan i Rakovec 1980,

Vaidyanathan i Scott 2006). Komórki apoptotyczne mogą również ulegać nekrozie wtórnej w czasie, gdy komórka pozostaje jeszcze w obszarze nabłonka (Kszuk-Jendrysik 2015) lub częściej – tuż po jej usunięciu (Okuda i in. 2007, Rost-Roszkowska i in. 2008a, 2010c, d, 2015a, 2016a, Chajec 2012). Zarówno u *J. scandinavicus*, jak i u *A. gigas* integralność błony komórkowej większości komórek apoptotycznych jest zachowywana aż do momentu usunięcia ich do światła jelita. W apikalnych częściach komórek apoptotycznych tworzą się pączki apoptotyczne, jednakże nie stwierdzono ich fagocytozy w świetle jelita przez komórki nabłonka. Obserwowana wakuolizacja części komórek apoptotycznych u *A. gigas*, jak również występowanie licznych pęcherzyków w obwodowych częściach cytoplazmy komórek apoptotycznych u *J. scandinavicus* najprawdopodobniej będzie oznaką rozpoczęcia nekrozy wtórnej już na terenie nabłonka jelita środkowego, podobnie jak u dwuparca z gatunku *T. aoutii* (Kszuk-Jendrysik 2015).

5.4.3. Nekroza

Alternatywnym do apoptozy czy autofagii typem śmierci komórek jest nekroza, zwana również martwicą. Często definiowana jest jako przypadkowy i bierny proces, nie wymagający nakładów energii. Wywoływana jest przez różne zewnętrzne czynniki, m. in. chemiczne (w tym substancje toksyczne), fizyczne (niska czy wysoka temperatura, promieniowanie), biologiczne (patogeny), jak również uszkodzenia mechaniczne (Stępień i in. 2007, Shen i Codogno 2012). Większość tych patologicznych czynników jest również przyczyną wystąpienia apoptozy, a skierowanie komórki na dany rodzaj śmierci zależy od siły czynnika indukującego oraz cech fizjologicznych i stanu rozwojowego tkanki, w której komórka występuje. Przeważnie przy niewielkim natężeniu i czasie działania czynnika szkodliwego uruchomiony zostaje proces apoptozy, natomiast gdy zostanie przekroczony tzw. próg odporności komórki na dany czynnik, obumieranie zachodzi poprzez nekrozę. Wskazuje się również, iż w niektórych przypadkach nekroza jest genetycznie programowanym procesem śmierci komórkowej, przebiegającym dokładnie określonym szlakiem sygnałowym. Określana jest wówczas mianem nekroptozy i może pełnić ważną rolę również w procesach fizjologicznych komórki (Karch i Molkentin 2015).

W komórce nekrotycznej w wyniku znacznego spadku ATP, będącego konsekwencją depolaryzacji błony mitochondrialnej, następuje wzmożenie procesów, które skutkują obniżeniem pH wewnątrz komórki. Zachodzące zmiany w kondensacji

chromatyny jądrowej i uszkodzenia siateczki śródplazmatycznej sprawiają, iż zmniejszona zostaje synteza wielu niezbędnych czynników białkowych, co skutkuje zatrzymaniem metabolizmu komórki. W wyniku braku ATP, zaburzony zostaje transport elektrolitów. Konsekwencją jest napływ wody do cytozolu, powodujący pęcznienie komórki i jej obrzęk. Organelle komórkowe ulegają rozdęciu i lizie. Uwolnione z pękających lizosomów hydrolazy trawią elementy strukturalne komórki. Wszystkie te zmiany doprowadzają do destrukcji komórki, poprzez przerwanie integralności błony komórkowej i wylania się cytoplazmy wraz z degenerującymi organelami do przestrzeni międzykomórkowej (Shen i Codogno 2012). Proces nekrozy dotyczy zazwyczaj całych grup komórek, które pod wpływem działania wymienionych czynników fizycznych, chemicznych czy biologicznych pęcznieją i ulegają destrukcji (Rost-Roszkowska 2008a, Rost-Roszkowska i in. 2010d, e). Występującemu podczas nekrozy rozpadowi komórek poprzez wylanie się ich zawartości, towarzyszy występowanie stanów zapalnych, których brak w przypadku programowanej śmierci komórkowej typu I i II.

Formą martwicy jest również wspomniana już nekroza wtórna, będąca dokończeniem zachodzącego wcześniej procesu apoptozy w szczególnych warunkach. Mianowicie zachodzi w sytuacjach braku lub niedostatku komórek żernych, zdolnych do fagocytowania apoptotycznych komórek w całości lub ich fragmentów w postaci ciałek apoptotycznych (Sikora 1994, Ligęza-Żuber i Boguś 2014). Nekroza wtórna może zachodzić w następstwie apoptozy u organizmów jednokomórkowych, w wyizolowanych komórkach hodowanych *in vitro*, jak również w komórkach nabłonka jelita. Komórka ulegająca nekrozie wtórnej, oprócz charakterystycznych symptomów apoptozy, będzie wykazywała zmiany morfologiczne obserwowane podczas zachodzącego procesu martwicy (Silva i in. 2008, Silva 2010).

W jelicie środkowym proces nekrozy został stwierdzony u wielu gatunków stawonogów (Rost-Roszkowska 2008a, Rost-Roszkowska i in. 2010c, d, e, 2016a, Chajec 2012, Kszuk-Jendryś 2015, Sonakowska i in. 2016). Wśród opisywanych zmian morfologicznych komórek nekrotycznych wymienia się elektronowo jasną cytoplazmę i jej częstą wakuolizację. Organelle komórkowe, takie jak mitochondria, lizosomy, cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej i gładkiej oraz aparaty Golgiego, ulegają rozdęciu, a ich ilość w cytoplazmie spada. Mitochondria tracą swe grzebienie i ulegają destrukcji. Wewnątrz komórki nekrotycznej mogą występować wcześniej zgromadzone sferyty, granule czy struktury procesu autofagii. Błona

komórkowa traci mikrokosmki i może tworzyć buławkowate uwypuklenia w stronę światła jelita. Ostatecznie następuje jej pęknięcie i usuwanie zawartości komórki do światła jelita, gdzie wyrzucone organelle i struktury komórkowe wraz z cytoplazmą oraz fragmentami błony komórkowej ulegają strawieniu.

Nekroza u analizowanych gatunków dotyczy wyłącznie komórek trawiennych i zachodzi równomiernie na terenie całego nabłonka w podobny sposób, jak u innych stawonogów. U *A. gigas*, we wczesnych etapach nekrozy, oprócz rozdęcia mitochondriów zachodzą zmiany w ich kształcie, czego nie stwierdzono u *J. scandinavius*. U tego pierwszego gatunku podczas nekrozy dochodzi również do zmian w kształcie jądra komórkowego, natomiast u *J. scandinavius* zaobserwowano tylko jego nabrzmienie. W obu przypadkach nukleoplazma staje się elektronowo jasna, a chromatyna jądrowa ulega marginalizacji. Zaobserwowano destrukcję większości organeli komórkowych w obrębie komórki nekrotycznej, jeszcze przed pęknięciem błony komórkowej. Dodatkowo u *A. gigas* stwierdzono tworzenie się buławkowatych uwypukleń błony apikalnej do światła jelita.

Proces nekrozy jest dominującym typem śmierci w jelicie środkowym *A. gigas*, natomiast w jelicie *J. scandinavius* występuje sporadycznie. U tego pierwszego gatunku będzie głównym procesem odpowiedzialnym za utrzymanie homeostazy w nabłonku jelita środkowego, podobnie jak u parecznika *L. forficatus* (Chajec 2012). Ten rodzaj śmierci komórkowej może być odpowiedzią na urazy spowodowane przemieszczaniem się dużych ilości mas pokarmowych w przewodzie pokarmowym badanego stawonoga, jak również na działanie obecnych w świetle jelita mikroorganizmów. W ten sposób usuwane są uszkodzone komórki wraz ze zgromadzonymi granulami, sferytami i ciałami resztkowymi. Występowanie autofagosomów i autolizosomów na terenie cytoplazmy komórek nekrotycznych może wskazywać, iż nekroza będzie rodzajem śmierci komórkowej zachodzącym w momentach, gdy zawiedzie ochronne działanie autofagii. Takie funkcje nekrozy zostały również stwierdzone przez Kszuk-Jendrysik (2015) w badaniach nad gatunkiem dwuparca *T. aoutii*. Natomiast u *J. scandinavius* proces ten zachodzi ze znacznie mniejszą częstotliwością i będzie w niewielkim stopniu odpowiedzialny za eliminację uszkodzonych komórek.

W jelicie środkowym wijów często wskazuje się na powiązanie procesów nekrozy z działaniem substancji szkodliwych, w tym metali ciężkich (Hopkin i Read 1992, Vandenbulcke i in. 1998a, de Godoy i Fontanetti 2010, Nogarol i Fontanetti 2011, Perez i Fontanetti 2011). Stwierdzono eliminację całych grup komórek

charakteryzujących się wakuolizacją cytoplazmy i spadkiem liczby organelli komórkowych w organizmach narażonych na działanie toksycznych czynników chemicznych. U *A. gigas* obserwowano wydalenie całych komórek ze zgromadzonymi licznymi granulami z potencjalnie szkodliwymi substancjami, jednakże ulegały one nekrozie wtórnej.

Nekroza wtórna komórek apoptotycznych obserwowana u obu gatunków będzie odpowiedzią na brak w jelicie środkowym komórek zdolnych do fagocytozy. W świetle jelita wszystkie komórki apoptotyczne u obu analizowanych gatunków ulegają martwicy wtórnej, podobnie jak u wielu gatunków stawonogów. Jednakże u *A. gigas* część komórek apoptotycznych umiejscowiona jeszcze w nabłonku, wykazywała w elektronowo gęstej cytoplazmie znaczną wakuolizację. Tak wczesne zapoczątkowanie procesu nekrozy wtórnej może odgrywać ważną rolę w skutecznej degradacji komórki i jej szybszej eliminacji z nabłonka. Proces ten u *A. gigas* dotyczył komórek, których przyspieszona eliminacja mogłaby mieć duże znaczenie w szybszej detoksykacji, pozwalając na utrzymanie homeostazy. Natomiast zapoczątkowanie nekrozy wtórnej u *J. scandinavicus* w komórkach apoptotycznych umiejscowionych jeszcze w nabłonku, może być związane z intensywnością procesów programowanej śmierci komórkowej typu I w jego jelicie środkowym. U tego gatunku apoptoza jest dominującym rodzajem obumierania komórek nabłonka, a jak powszechnie wiadomo proces ten zachodzi dość wolno. Wcześniej zapoczątkowana nekroza wtórna najprawdopodobniej będzie spowodowana koniecznością szybszej eliminacji uszkodzonych komórek z nabłonka.

6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

Przeprowadzona analiza budowy komórek nabłonka jelita środkowego na poziomie ultrastrukturalnym dwóch gatunków dwuparców należących do rzędu Spirostreptida oraz Julida umożliwiła dokładne poznanie tego endodermalnego odcinka przewodu pokarmowego badanych bezkręgowców. Podczas przeprowadzonych badań wykorzystano różne metody mikroskopii świetlnej, fluorescencyjnej oraz elektronowej, a szczególną uwagę zwrócono na procesy regeneracji i degeneracji zachodzące w obrębie analizowanego narządu. Uzyskane wyniki pozwoliły na porównanie organizacji struktury nabłonka jelita środkowego z danymi literaturowymi dotyczącymi jelita środkowego innych przedstawicieli stawonogów, przede wszystkim wijów z gromad Diplopoda i Chilopoda. Najistotniejsze wnioski z niniejszych badań można przedstawić następująco:

1. przewód pokarmowy *A. gigas* i *J. scandinavius* ma postać prostej, nierozgałęzionej tuby, rozciągającej się przez całe ciało osobnika;
2. budowa jelita środkowego obu badanych gatunków jest podobna do budowy tego odcinka przewodu pokarmowego u większości wijów: występuje jednowarstwowy nabłonek wielorzędowy, którego struktura jest niezmienna na całej długości jelita środkowego, i który jest od strony światła jelita wyścielony błoną perytroficzną;
3. nabłonek jelita środkowego utworzony jest z trzech typów komórek, z których dominujące są komórki trawienne, mniej licznie występują komórki regeneracyjne, natomiast komórki wydzielnicze występują sporadycznie;
4. ultrastrukturalna budowa komórek trawiennych analizowanych gatunków wykazuje standardową regionalizację w rozmieszczeniu organelli komórkowych, szeroko rozpowszechnioną wśród różnych grup stawonogów;
5. rozmieszczenie struktur komórkowych w cytoplazmie komórek trawiennych obu badanych gatunków oraz różne sposoby wydzielania wskazują na udział tych komórek w procesach sekrecyjnych, trawiennych, absorpcyjnych i magazynujących;
6. komórki regeneracyjne obu badanych gatunków wykazują cechy unipotencjalnych komórek macierzystych, zdolnych do różnicowania się w komórki trawienne i dzielących się w sposób ciągły przez całe życie osobnika;

7. komórki wydzielnicze występujące u analizowanych gatunków należą do typu zamkniętego i swoją budową przypominają komórki endokrynowe innych grup stawonogów; ponadto u *A. gigas* znacznie różnią się ultrastrukturą, co sugeruje, iż mogą występować różne ich rodzaje;
8. jelito środkowe badanych gatunków otoczone jest przez komórki wątrobowe, charakterystyczne dla przedstawicieli Diplopoda, które pozostają w bliskim kontakcie z komórkami trawiennymi; analiza ich ultrastruktury wskazuje na aktywne wspomaganie prawidłowego funkcjonowania nabłonka jelita środkowego poprzez pełnienie funkcji magazynujących, przetwarzających i transportujących produktów trawienia, jak również substancji szkodliwych;
9. degeneracja nabłonka jelita środkowego obu badanych krocionogów następuje poprzez autofagię, apoptozę i nekrozę, a przebieg tych procesów zachodzi w podobny sposób jak opisywany w jelicie środkowym innych stawonogów;
10. autofagia w jelicie środkowym analizowanych dwuparców pełni rolę ochronną, warunkującą przeżycie komórek;
11. dominującym procesem śmierci komórkowej u *A. gigas* jest nekroza, natomiast u *J. scandinavius* apoptoza; procesy te spełniają rolę fizjologicznych mechanizmów utrzymujących prawidłowe funkcjonowanie jelita środkowego badanych gatunków poprzez usuwanie nieprawidłowych, uszkodzonych oraz zbędnych komórek z nabłonka.

7. STRESZCZENIE

Dwuparce (Diplopoda) stanowią najliczniejszą grupę wijów (Myriapoda) występującą w różnych środowiskach na Ziemi. Są również szeroko rozpowszechnione w Europie, w tym także w Polsce. W głównej mierze są saprofagami odgrywając znaczącą rolę w obiegu materii w przyrodzie. Wybrane do badań krocionogi należą do gatunków *Archispirostreptus gigas* oraz *Julus scandinavius* i są przystosowane do drążenia korytarzy w glebie. Pierwszy z nich to jeden z największych dotychczas poznanych wijów występujący w południowo wschodnich rejonach Afryki, natomiast drugi z analizowanych dwuparców jest przedstawicielem naszej rodzimej fauny. Krocionogi stanowią obiekt wielu badań toksykologicznych i ekofizjologicznych, jednakże wiedza na temat ultrastruktury i fizjologii układu pokarmowego tych zwierząt jest ciągle niepełna. Przeprowadzone badania zostały poczynione w celu pozyskania informacji na temat szczegółów budowy jelita środkowego dwuparców na poziomie ultrastrukturalnym i procesów zachodzących na jego terenie. Analizy materiału dokonano przy użyciu mikroskopii świetlnej i fluorescencyjnej oraz transmisyjnej mikroskopii elektronowej, z wykorzystaniem reakcji pozwalających na wizualizację diagnozowanych struktur komórkowych, zbadanie procesów degeneracji i regeneracji nabłonka jelita środkowego.

Wyniki niniejszej pracy wykazały, iż u obu analizowanych gatunków jelito środkowe posiada postać nierozgałęzionego, wewnętrznego przewodu, występującego wzdłuż ciała osobników. Od zewnątrz otoczone jest mięśniami wisceralnymi oraz komórkami wątrobowymi występującymi na całej jego długości. Komórki te posiadają liczne wypustki cytoplazmatyczne, dzięki którym pozostają w kontakcie z nabłonkiem jelita, wspomagając jego działanie. Podobnie jak u większości krocionogów odgrywają ważną rolę w magazynowaniu i transporcie materiałów zapasowych oraz odpowiedzialne są za gromadzenie i neutralizację substancji szkodliwych pochodzących z procesów przemiany materii czy pożywienia. Nabłonek jelita środkowego jest jednowarstwowy, wielorzędowy okryty od strony światła wielowarstwową błoną perytroficzną o regularnej strukturze siatki.

W nabłonku tym wyróżniono trzy typy komórek: komórki trawienne, regeneracyjne i wydzielnicze. Najliczniejszą populację stanowią komórki trawienne, posiadające cylindryczny kształt i odznaczające się typową dla większości stawonogów regionalizacją w rozmieszczeniu organelli komórkowych w ich cytoplazmie.

Podstawową rolą tych komórek jest trawienie i wchłanianie substancji pokarmowych, jak również transport i magazynowanie składników materii odżywczej. Odpowiedzialne będą więc za syntezę i wydzielanie enzymów trawiennych. U obu gatunków stwierdzono wydzielanie substancji na drodze mikroapokrynowej, a u *J. scandinavicus* również apokrynowej. Na terenie komórek trawiennych obu analizowanych gatunków magazynowane są lipidy i polisacharydy, natomiast *J. scandinavicus* odkładanym materiałem zapasowym są także białka. Drugi z typów komórek budujących nabłonek, a mianowicie komórki regeneracyjne rozmieszczone są pojedynczo na całej długości jelita środkowego pomiędzy bazalnymi częściami komórek trawiennych. Stanowią rezerwuuar unipotencjalnych komórek macierzystych, zdolnych do asymetrycznych podziałów, w których jedna z powstałych komórek potomnych różnicuje się w komórkę trawienną. Oba badane gatunki charakteryzuje regeneracja ciągła. Komórki wydzielnicze są najrzadziej występującymi komórkami w nabłonku u obu gatunków, należą do typu zamkniętego i fizjonomią przypominają komórki endokrynowe innych stawonogów. Charakteryzują się występowaniem w ich cytoplazmie licznych granul o różnej gęstości elektronowej. U *J. scandinavicus* wszystkie komórki wykazują podobną budowę, natomiast u *A. gigas* obserwowano rozróżnienie na dwa ich typy.

Procesy degeneracji nabłonka jelita środkowego zachodzą na drodze autofagii, apoptozy i nekrozy. Te rodzaje śmierci komórki przebiegają sposób typowy, opisywany również u innych bezkręgowców. U obu gatunków dwuparców autofagia indukowana jest zmianami w budowie i funkcjonowaniu organelli komórkowych oraz występowaniem potencjalnie szkodliwych substancji. Stanowi więc strategię przeżycia komórki. Apoptoza jest najczęściej występującym typem śmierci komórkowej w nabłonku jelita środkowego *J. scandinavicus* i jest głównym procesem usuwania z nabłonka nieprawidłowych i zużytych komórek, przyczyniając się do utrzymania homeostazy organizmu. Natomiast u *A. gigas* tę funkcję pełni głównie nekroza, a apoptoza zachodzi znacznie rzadziej.

Poznanie ultrastruktury nabłonka jelita środkowego wraz z komórkami mu towarzyszącymi oraz określenie procesów w nich zachodzących jest przydatne, gdyż nie tylko poszerza ogólną wiedzę na temat krocionogów, ale również wnosi istotne informacje odnośnie narządu stanowiącego pierwszą linię obronny organizmu przed wieloma czynnikami szkodliwymi pochodzącymi ze środowiska, a przenoszonymi wraz z pokarmem.

8. BIBLIOGRAFIA

1. ADIS J., 1986: An 'aquatic' millipede from a Central Amazonian inundation forest. *Oecologia*. 68 (3): 347-349.
2. ADIS J., GOLOVATCH S. I., HOFFMAN R. L., HALES D. F., BURROWS F. J., 1998: Morphological adaptations of the semiaquatic millipede *Aporodesminus wallacei* Silvestri 1904 with notes on the taxonomy, distribution, habitats and ecology of this and a related species (Pyrgodesmidae Polydesmida Diplopoda). *Tropical Zoology*. 11 (2): 371-387.
3. ADIS J., FODDAI D., GOLOVATCH S. I., HOFFMAN R. L., MINELLI A., DE MORAIS J. W., PEREIRA L. A., SCHELLER U., SCHILEYKO A. A., WÜRMLI M., 2002: Myriapoda at "Reserva Ducke", Central Amazonia/Brazil. *Amazoniana*. 17 (1/2): 15-25.
4. AGYEI A. D., HERBERT I. V., RUNHAM N. W., 1991: Histochemical localisation of acid phosphatase and non-specific esterase in the midguts of two species of tick, *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus appendiculatus*, as determined by light microscopy. *Parasitology Research*. 77 (7): 629-634.
5. AKKARI N., ENGHOFF H., METSCHER B. D., 2015: A new dimension in documenting new species: high-detail imaging for Myriapod taxonomy and first 3D cybertype of a new millipede species (Diplopoda, Julida, Julidae). *Plos One*. 10 (8): e0135243, doi:10.1371/journal.pone.0135243.
6. ALAGESAN P., GANGA G., 1989: Millipedes as potential pests of tuber crops. *Indian Journal of Experimental Biology*. 27: 177-179.
7. ALAGESAN P., 2016: Millipedes: diversity, distribution and ecology. W: Chakravarthy A. K., Sridhara S., (red.), *Arthropod Diversity and Conservation in the Tropics and Subtropics*: 119-137. Springer, Singapore.
8. AMEISEN J. C., 2010: The origin and evolution of programmed cell death. W: Melino G., Vaux D., (red.), *Cell Death*: 13-20. Wiley-Blackwell, Chichester.
9. ANDING A. L., BAEHRECKE E. H., 2015: Autophagy in cell life and cell death. *Current Topics in Developmental Biology*. 114: 67-91.

10. ANDRADE-COELHO C. A., SANTOS-MALLET J., SOUZA N. A., LINS U., MEIRELLES M. N. L., RANGEL R. F., 2001: Ultrastructural features of the midgut epithelium of females *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 96 (8): 1141-1151.
11. ANDRIÈS J. C., 1976: Presence de deux type cellulaires endocrines et d'un type exocrine au sein du mesenteron de la larve d'*Aeshna cyanea* Müller (Odonata: Aeshnidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*. 5: 393-407.
12. ANDRIÈS J. C., TRAMU G., 1985: Ultrastructural and immunohistochemical study of endocrine cells in the midgut of the cockroach *Blaberus craniifer* (Insecta, Dictyoptera). *Cell and Tissue Research*. 240: 323-332.
13. ANTIĆ D., DRAŽINA T., RAĐA T., TOMIĆ V. T., MAKAROV S. E., 2015: Review of the family Anthogonidae (Diplopoda, Chordeumatida), with descriptions of three new species from the Balkan Peninsula. *Zootaxa*. 3948 (2): 151-181.
14. ASHILI P., TUFOVÁ J., TUF I.H., TAJOVSKÝ K., 2007: Impact of ungulate grazing on leaf litter palatability for millipedes (Diplopoda). W: Tajovský, K. (red.), 9th Central European Workshop on Soil Zoology, Abstract book 1. Institute of Soil Biology, Biology Centre, České Budějovice.
15. ASHWINI K. M., SRIDHAR K. R., 2002: Towards organic farming with millipede *Arthrosphaera magna*. *Current Science*. 82 (1): 20-22.
16. BACCHETTA R., MARAN B., MARELLI M., SANTO N., TREMOLADA P., 2016: Role of soluble zinc in ZnO nanoparticle cytotoxicity in *Daphnia magna*: A morphological approach. *Environ Research*. 148: 376-385.
17. BAKER A. N., 1974: Some aspects of the economic importance of millipedes. W: Blower, J. G., (red.), Myriapoda. *Zoological Society of London Symposia*. 32: 621-628. Academic Press, New York.
18. BAKER J. E., WOO S. M., BYRD R. V., 1984: Ultrastructural features of the gut of *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) with notes on distribution of proteinases and amylases in crop and midgut. *Canadian Journal of Zoology*. 62 (7): 1251-1259.

19. BALBIANI, E. G., 1890: Étude anatomique et histologique sur le tube digestif des *Cryptops*. Archives de zoologie expérimentale et générale, série 2. 8: 1–82.
20. BALDWIN K. M., HAKIM R. S., 1991: Growth and differentiation of the larval midgut epithelium during molting in the moth, *Manduca sexta*. Tissue and cell. 23 (3): 411-422.
21. BALL S. J., 1982: Ultrastructural observations on *Barroussia schneideri* (Apicomplexa, Eucoccidiida) in the centipede *Lithobius forficatus*. Journal of Invertebrate Pathology. 39 (2): 229-235.
22. BALL S. J., PITTILO R. M., 1983: Fine structure of the merozoites of *Barroussia schneideri* parasitic in *Lithobius forficatus*. International Journal for Parasitology. 13 (2): 145-149.
23. BALL S. J., BURGOYNE J. E., 1992: Ultrastructural observations of *Goussia lacazei* (Apicomplexa, Barrousiidae) in the centipede, *Lithobius forficatus*. Journal of Invertebrate Pathology. 60 (1): 69-75.
24. BARBEHENN R., 2001: Roles of peritrophic membranes in protecting herbivorous insects from ingested plant allelochemicals. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 47 (2): 86-99.
25. BARBER A. D., 2009: Littoral myriapods: a review. Soil Organisms. 81 (3): 735-760.
26. BARLOW C. A., 1957: A factorial analysis of distribution in three species of Diplopods. Tijdschrift Voor Entomologie. 100: 349-426.
27. BAUCKMAN K. A., OWUSU-BOAITEY N., MYSOREKAR I. U., 2015: Selective autophagy: xenophagy. Methods. 75:120-127.
28. BEDNARSKA A. J., LASKOWSKI R., PYZA E., SEMIK D., ŚWIĄTEK Z., WOŹNICKA O., 2016: Metal toxicokinetics and metal-driven damage to the gut of the ground beetle *Pterostichus oblongopunctatus*. Environmental Science and Pollution Research. 23 (21): 22047-22058.
29. BERON P., 2008: High Altitude Isopoda, Arachnida and Myriapoda in the Old World. Pensoft & National Museum of Natural History. Sofia.
30. BILLINGSLEY P. F., 1990: The midgut ultrastructure of hematophagous insect. Annual Review of Entomology. 35: 219-248.
31. BILLINGSLEY P. F., LEHANE M. J., 1996: Structure and ultrastructure of the insect midgut. W: Lehane M. J., Billingsley P. F., (red.), Biology of the insect midgut: 3-30. Chaman & Hall, London.

32. BINNINGTON K. C., LEHANE M. J., BEATON C. D., 1998: The peritrophic membrane. W: Harrison F. W., Locke M., (red.), Microscopic Anatomy of Invertebrates. Volume 11B: Insecta: 747-758. Wiley-Liss, New York.
33. BLOWER J. G., 1985: Millipedes : keys and notes for the identification of the species. Linnean Society Synopses of the British Fauna (New Series), nr 35. Brill/Backhuys, London.
34. BŁASZAK C., 2012: Zoologia. Bezkręgowce, Stawonogi, T. 2, cz. 2, Tchawkodyszne. PWN, Warszawa.
35. BOLOGNESI R., TERRA W. R., FERREIRA C., 2008: Peritrophic membrane role in enhancing digestive efficiency: Theoretical and experimental models. Journal of Insect Physiology. 54 (10-11): 1413-1422.
36. BOREK S., RUTA-PIOSIK M., PALUCH E., PIETROWSKA-BOREK M., 2015: Selekttywne rodzaje autofagii. Postępy Biologii Komórki. 42 (3): 505-538.
37. BOWEN I. D., 1968A: Electron cytochemical studies on autophagy in the gut epithelial cells of the locust, *Schistocerca gregaria*. The Histochemical Journal. 1 (2): 141-151.
38. BOWEN, R. C., 1968B: Histochemical studies on two millipedes species. The Ohio Journal of Science. 68 (2): 85-91.
39. BOZZATTO V., FONTANETTI C. S., 2012: Sewage sludge toxicity in edaphic organism: Analysis of midgut responses in the diplopod *Rhinocricus padbergi*. Microscopy Research and Technique. 75: 869-875.
40. BREWER M. S., SIERWALD P., BOND J. E., 2012: Millipede taxonomy after 250 years: classification and taxonomic practices in a mega-diverse yet understudied arthropod group. Plos One. 7 (5): e37240, doi:10.1371/journal.pone.0037240.
41. BROWN M. R., RAIKHEL A. S., LEA, A. O., 1985: Ultrastructure of midgut endocrine cells in the adult mosquito, *Aedes aegypti*. Tissue Cell. 17 (5): 709-721.
42. BRUGEROLLE G., RADEK R. 2006: Symbiotic Protozoa of Termites. W: König H., Varma A., (red.), Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates, vol. 6 of the series Soil Biology, pt II: 243-269. Springer, Berlin.
43. BRYANT B., RAIKHEL A. S., 2011: Programmed autophagy in the fat body of *Aedes aegypti* is required to maintain egg maturation cycles. Plos One. 6 (11): e25502, doi:10.1371/journal.pone.0025502.

44. BÜNING J., VON SMOLINSKI D., TAFAZZOLI K., ZIMMER K. P., STROBEL S., APOSTOLAKI M., KOLLIAS G., HEATH J. K., LUDWIG D., GEBERT A., 2008: Multivesicular bodies in intestinal epithelial cells: responsible for MHC class II-restricted antigen processing and origin of exosomes. *Immunology*. 125: 510-521.
45. BYZOV B. A., 2006: Intestinal microbiota of Millipedes. W: König H., Varma A., (red.), *Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates*, vol. 6 of the series *Soil Biology*, pt I: 89-114. Springer, Berlin.
46. CAMARGO-MATHIAS M. I., FONTANETTI C. S., 2000: Ultrastructural features of the fat body and oenocytes of *Rhinocricus padbergi* Verhoeff (Diplopoda, Spirobolida). *Biocell*. 24 (1): 1-12.
47. CAMARGO-MATHIAS M. I., FANTAZZINI E. R., FONTANETTI C. S., 2004: Ultrastructural features of the midgut of *Rhinocricus padbergi* (Diplopoda: Spirobolida). *Brazilian Journal of Morphological Sciences*. 21 (2): 65-71.
48. CAMARGO-MATHIAS M. I., FANTAZZINI E. R., FONTANETTI C. S., CALLIGARIS I. B., 2011: 3D reconstruction and scanning electron microscopy of salivary glands of the millipede *Rhinocricus padbergi* (Verhoeff, 1938) (Diplopoda: Spirobolida). *Micron*. 42 (3): 271-274.
49. CAPMAN R. F., 1998: *The Insects: structure and function*. 4th edition. Cambridge University Press, Oxford.
50. CASARTELLI M., CERMENATI G., RODIGHIERO S., PENNACCHIO F., GIORDANA B., 2008: A megalin-like receptor is involved in protein endocytosis in the midgut of an insect (*Bombyx mori*, Lepidoptera). *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 295 (4): R1290-300
51. CEBOLLERO E., REGGIORI F., KRAFT C., 2012: Reticulophagy and ribophagy: regulated degradation of protein production factories. *International Journal of Cell Biology*. 2012 (6): 182834, doi: 10.1155/2012/182834.
52. CHAJEC Ł., 2012: Ultrastruktura nabłonka jelita środkowego dwóch przedstawicieli wijów (Myriapoda), *Lithobius forficatus* Linneusz, 1758 (Chilopoda: Lithobiidae) i *Scolopendra cingulata* Latreille, 1829 (Chilopoda: Scolopendridae) ze szczególnym uwzględnieniem procesów jego degeneracji i regeneracji. Uniwersytet Śląski. Praca doktorska.

53. CHAJEC L., ROST-ROSZKOWSKA M. M., VILIMOVA J., SOSINKA A., 2012: Ultrastructure and regeneration of midgut epithelial cells in *Lithobius forficatus* (Chilopoda, Lithobiidae). *Invertebrate Biology*. 131 (2): 119-132.
54. CHAJEC L., SONAKOWSKA L., ROST-ROSZKOWSKA M. M., 2014: The fine structure of the midgut epithelium in a centipede, *Scolopendra cingulata* (Chilopoda, Scolopendridae), with the special emphasis on epithelial regeneration. *Arthropod Structure & Development*. 43 (1): 27-42.
55. CHAPMAN R. F., 1998: *The Insects: Structure and Function*. Elsevier, New York.
56. CRISTOFOLETTI C. A., FRANCISCO A., PEDRO-ESCHER J., GASTALDI V. D., FONTANETTI C. S., 2016: Diplopods as soil bioindicators of toxicity after application of residues from sewage treatment plants and ethanol industry. *Microscopy and Microanalysis*. 22 (5): 1098-1110.
57. CLOPTON R. E., 2002: Phylum Apicomplexa Levine, 1970: Order Eugregarinorida Léger, 1900. W: Lee J. J., Leedale G., Patterson D., Bradbury P. C., (red.), *Illustrated Guide to the Protozoa*: 205-288. Society of Protozoologists, Kansas.
58. CIOFFI M., 1984: Comparative of artropod transporting epithelia. *American Zoologist*. 24 (1):139-156.
59. COLEMAN D. C., CROSSLEY D. A., HENDRIX P. F., 2004: *Fundamentals of Soil Ecology*, 2nd edition. Elsevier Academic Press, New York.
60. CONNER S. D, SCHMID S. L., 2003: Regulated portals of entry into the cell. *Nature*. 422 (6927): 37-44.
61. COOPER D. M., MITCHEL-FOSTER K., 2011: Death for survival: what do we know about innate immunity and cell death in insects? *Invertebrate Survival Journal*. 8: 162-172.
62. CORBET A. G. B., 1997: Myriapods of moorland habitats in the Sidlaw Halls. *Bulletin of the British Myriapod Group*. 13: 4-13.
63. CRAWFORD C. S., 1979: Desert millipedes: a rationale for their distribution. W: Camatini M., (red.), *Myriapod Biology*: 171-181. Academic Press, London.
64. CRAWFORD C. S., MINION G. P., BOYERS M. D., 1983: Intima morphology, bacterial morphotypes, and effects of annual molt on microflora in the hindgut of the desert millipede, *Orthoporus ornatus* (Girard) (Diplopoda: Spirostreptidae). *International Journal of Insect Morphology and Embryology*. 12 (5/6): 301-312.

65. CRAWFORD C. S., BERCOVITZ K., WARBURG M. R., 1987: Regional environments, life-history patterns and habitat use of spirostreptid millipedes in arid regions. *Zoological Journal of the Linnean Society of London*. 89: 63-88.
66. CRISTOFOLETTI P. T., RIBEIRO A. F., TERRA W. R., 2001: Apocrine secretion of amylase and exocytosis of trypsin along the midgut of *Tenebrio molitor* larvae. *Journal of Insect Physiology*. 47 (2): 143-155.
67. CUERVO A. M., WONG E., 2014: Chaperone-mediated autophagy: roles in disease and aging. *Cell Research*. 24: 92-104.
68. CURRY J. P., 1994: Grassland invertebrates: ecology, influence on soil fertility and effects on plant growth. Chapman & Hall, London.
69. DALLAI R., BIGLIARDI E., LANE N. J., 1990: Intercellular junctions in myriapods. *Tissue Cell*. 22 (3): 359-369.
70. DAMSGAARD C., FAGO A., HAGNER-HOLLER S., MALTE H., BURMESTER T., WEBER R. E., 2013: Molecular and functional characterization of hemocyanin of the giant African millipede, *Archispirostreptus gigas*. *Journal of Experimental Biology*. doi:10.1242/jeb.080861
71. DANGERFIELD M. J., TELFORD S. R. 1996: The ecology of savanna millipedes in southern Africa. W: Geoffroy J. J., Mauriès J. P., Nguyen Duy - Jacquemin M., (red.). *Acta Myriapodologica*, 169: 617–625. Mémoire du Muséum National d'Histoire Naturelle. Paris.
72. DENTON D., XU T., KUMAR S., 2015: Autophagy as a pro-death pathway. *Immunology & Cell Biology*. 93(1) :35-42.
73. DESHMUKH S. V., DESHMUKH C. K., 2011: Histological studies on the alimentary canal of the millipede, *Anoplodesmus tanjoricus* (Pocock) (Diplopoda: Polydesmida). *Bioscan*. 6 (4): 579-583.
74. DÍAZ E., ARCINIEGA O., SÁNCHEZ L., CISNEROS R., ZÚÑIGA G., 2003: Anatomical and histological comparison of the alimentary canal of *Dendroctonus micans*, *D. ponderosae*, *D. pseudotsugae pseudotsugae*, *D. rufipennis*, and *D. terebrans* (Coleoptera: Scolytidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 96 (2): 144-152.
75. DILLON R., CHARNLEY K., 2002: Mutualism between the desert locust *Schistocerca gregaria* and its gut microbiota. *Research in Microbiology*. 153 (8): 503-509.

76. EDGECOMBE G. D., KOCH M., 2009: The contribution of preoral chamber and foregut morphology to the phylogenetics of Scolopendromorpha (Chilopoda). *Soil Organisms*. 81 (3): 295-318.
77. EISEMANN C. H., BINNINGTON K. C., 1994: The peritrophic membrane: its formation, structure, chemical composition and permeability in relation to vaccination against ectoparasitic arthropods. *International Journal for Parasitology*. 24 (1): 15-26.
78. EISENBEIS G., WICHARD W., 1987: Atlas on the biology of soil arthropods. Springer, Berlin.
79. ELZINGA R. J., 1998: Microspines in the alimentary canal of arthropoda, Onychophora, Annelida. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*. 27 (3): 341-349.
80. ENGHOFF H., 1992: The size of a millipede. *Advances in Myriapodology, Berichte des naturwissenschaftlich-medizinischen Vereins in Innsbruck*. Suppl 10: 47-56.
81. ENGHOFF H., WOLFGANG D., BLOWER J. G., 1993: Anamorphosis in millipedes (Diplopoda) – the present state of knowledge with some developmental and phylogenetic considerations. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 109 (2): 103-234.
82. FANTAZZINI E. R., FONTANETTI C. S., CAMARGO-MATHIAS M. I., 1998: Anatomy of the digestive tube, histology and histochemistry of the foregut and salivary glands of *Rhinocricus padbergi* Verhoeff (Diplopoda: Spirobolida: Rhinocricidae). *Arthropoda Selecta*. 7 (4): 257-264.
83. FANTAZZINI E. R., FONTANETTI C. S., CAMARGO - MATHIAS M. I., 2002: Midgut of the millipede, "*Rhinocricus padbergi*" Verhoeff, 1938 (Diplopoda: Spirobolida): histology and histochemistry. *Arthropoda Selecta*. 11 (2): 135-142.
84. FIALHO M. D. C. Q., ZANUNCIO J. C., NEVES C. A., RAMALHO F. S., SERRÃO J. E., 2009: Ultrastructure of the digestive cells in the midgut of the predator *Brontocoris tabidus* (Heteroptera: Pentatomidae) after different feeding periods on prey and plants. *Annals of the Entomological Society of America*. 102 (1): 119-127.

85. FIALHO M. C. Q., MOREIRA N. R., ZANUNCIO J. C., RIBEIRO A. F., TERRA W. R., SERRÃO J. E., 2012: Prey digestion in the midgut of the predatory bug *Podisus nigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *Journal of Insect Physiology*. 58 (6): 850-856.
86. FILIMONOVA S. A., 2008: The fine structure of the midgut in the mite *Anystis baccarum* (L.) (Acari, Actinedida: Anystidae). *Arthropod Structure & Development*. 37 (4): 299-309.
87. FILIMONOVA S. A., 2009: The ultrastructural investigation of the midgut in the quill mite *Syringophilopsis fringilla* (Acari, Trombidiformes: Syringophilidae). *Arthropod Structure and Development*. 38 (4): 303-313.
88. FONTANETTI C. S., CAMARGO-MATHIAS M. I., 1997: Histoanatomy of the digestive tract in *Plusioporus setiger* diplopod (Brolemann, 1901) (Spirostreptida, Spirostreptidae). *Brazilian Journal of Morphological Sciences*. 14: 205-211.
89. FONTANETTI C. S., CAMARGO-MATHIAS M. I., CAETANO F. H., 2001: Apocrine secretion in the midgut of *Plusioporus setiger* (Brolemann, 1901) (Diplopoda, Spirostreptidae). *Naturalia, São Paulo*. 26: 35-42.
90. FONTANETTI C. S., CHRISTOFOLETTI C. A., PINHEIRO T. G., SOUZA T. S., PEDRO-ESCHER J., 2010: Microscopy as a tool in toxicological evaluations. W: Méndez-Vilas A., Diaz J., (red.), *Microscopy: science, technology, applications and education*: 1001-1007. Formatex Research Center, Badajoz.
91. FONTANETTI C. S., NOGAROL L. R., DE SOUZA R. B., PEREZ D. G., MAZIVIERO G. T., 2011: Bioindicators and biomarkers in the assessment of soil toxicity. W: Pascucci S., (red.), *Soil Contamination*. Intech, doi: 10.5772/25042.
92. FONTANETTI C. S., MOREIRA-DE-SOUSA C., PINHEIRO T. G., DE SOUZA R. B., FRANCISCO A., 2015: Diplopoda – digestive system. W: Minelli A., (red.), *Treatise on Zoology – Anatomy, Taxonomy, Biology. The Myriapoda*, Vol. 2: 109-127. Brill, Leiden.
93. FRANCOIS J., GRAF F., 1988: Unusual basement layer in the midgut of gammaridean *Niphargus virei* Chevreux (Crustacea, Amphipoda). *Histochemistry and Cell Biology*. 89 (4): 379-383.

94. FRANZETTI E., HUANG Z., SHI Y. X., XIE K., DENG X. J., LI J. P., LI Q. R., YANG W. Y., ZENG W. N., CASARTELLI M., DENG H. M., CAPPELLOZZA S., GRIMALDI A., XIA Q., FENG Q., CAO Y., TETTAMANTI G., 2012: Autophagy precedes apoptosis during the remodeling of silkworm larval midgut. *Apoptosis*. 17 (3): 305-324.
95. FREDERIKSEN S. B., ENGHOFF H., 2015: East African odontopygid millipedes 4: A restricted redefinition of the genus *Rhamphidarpoides* Kraus, 1960, a related new genus, five new species, and notes on solenomere function (Diplopoda; Spirostreptida; Odontopygidae). *Zootaxa*. 3926 (4): 541-560.
96. FUJITA T., KOBAYASHI S., 1977: Structure and function of gut endocrine cells. *International Review of Cytology. Supplement*. 6: 187-233.
97. GAINO E., REBORA M., 2001: Ultrastructural studies on the development of the gregarine *Enterocystis racovitzai* in the gut of *Baetis rhodani* (Ephemeroptera, Baetidae). W: Domínguez E. (red.), *Trends in research in Ephemeroptera and Plecoptera*: 443-452. Springer US, New York.
98. GIBSON-CARMICHAEL T. D., 1885: Notes on the anatomy of the Myriapoda. *Proceedings of the Royal Physical Society of Edinburgh*. 8: 377-381.
99. GIGLIOLLI A. A., JULIO A. H., CONTE H., 2016: The life cycle of *Gregarina cuneata* in the midgut of *Tribolium castaneum* and the effects of parasitism on the development of insects. *Bulletin of Entomological Research*. 106 (2): 258-267.
100. de GODOY J. A. P., FONTANETTI C. S., 2010: Diplopods as bioindicators of soils: analysis of midgut of individuals maintained in substract containing sewage sludge. *Water, Air & Soil Pollution*. 210 (1-4): 389-398.
101. GOLOVATCH S. I., VANDENSPIEGE D., 2015: A new species of the millipede genus *Cryptocorypha* Attems, 1907, from Myanmar (Diplopoda: Polydesmida: Pyrgodesmidae). *Arthropoda Selecta*. 24 (1): 27-31.
102. GOLOVATCH S. I., KIME R. D., 2009: Millipede (Diplopoda) distributions: A review. *Soil Organisms*. 81 (3): 565-597.
103. GÜL N., SAYAR H., ÖZSOY N., AYVALI C., 2001: A study on endocrine cells in the midgut of *Agrotis segetum* (Denn. and Schiff.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Turkish Journal of Zoology*. 25 (3): 193-197.
104. HAKIM R. S., BALDWIN K. M., LOEB M., 2001: The role of stem cells in midgut growth and regeneration. *In Vitro Cellular & Developmental Biology – Animal*. 37 (6): 338-342.

105. HAKIM R. S., BALDWIN K. M., SMAGGHE G., 2010: Regulation of midgut growth, development, and metamorphosis. *Annual Review of Entomology*. 55: 593-608.
106. HAMER M. L., SLOTOW R. H., LOVELL S., 2006: The South African savanna millipede (Diplopoda) fauna: taxonomic diversity, endemism, spatial and temporal effects on conservation assessments. *Norwegian Journal of Entomology*. 53 (2): 321-334.
107. HARRISON F. W., HUMES A. G., 1992: Microscopic anatomy of invertebrates. Vol. 9: Crustacea. Wiley-Liss, Inc. New York.
108. HARZSCH S., MELZER R. R., MÜLLER C. H. G., 2007: Mechanisms of eye development and evolution of the arthropod visual system: the lateral eyes of myriapoda are not modified insect ommatidia. *Organisms, Diversity & Evolution*. 7:20-32.
109. HAUSER H., VOIGTLÄNDER K., 2009: Doppelfüßer (Diplopoda) Ostdeutschlands: Bestimmung, Biologie und Verbreitung. Jugendbund für Naturbeobachtung, Göttingen.
110. HECKER H., 1977: Structure and function of midgut epithelial cells in Culicidae mosquitoes (Insecta, Diptera). *Cell & Tissue Research*. 184 (3): 321-341.
111. HEFNER R. A., 1929: The microanatomy of the alimentary canal of *Parajulus impressus* Say. *Transactions of the American Microscopical Society*. 48 (4): 321-351.
112. HEGEDUS D., ERLANDSON M., GILLOTT C., TOPRAK U., 2009: New insights into peritrophic matrix synthesis, architecture, and function. *Annual Review of Entomology*. 54: 285-302.
113. HEMBREE D. I., 2009: Neoichnology of burrowing millipedes: linking modern burrow morphology, organism behavior, and sediment properties to interpret continental ichnofossils. *Palaios*. 24 (7/8): 425-439.
114. HILKEN G., ROSENBERG J., 2009: First ultrastructural investigation of the pharynx apparatus of *Scutigera coleoptrata* (Chilopoda, Notostigmophora). *Soil Organisms*. 81 (3): 327-335.
115. HOFFMAN R. L., 2000: Millipedes. W: Burgess N. D., Clarke G. P., (red.), *The Coastal Forests of Eastern Africa*: 211-218. International Union for Conservation of Nature, Cambridge.

116. HOFFMAN R. L., GOLOVATCH S. I., ADIS J., MORAIS, J. W., 2002: Diplopoda. W: Adis J., (red.), Aracnida and Myriapoda: 505-533. Pensoft, Sofia-Moscow.
117. HOOPER L. V., GORDON J. I., 2001: Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*. 292 (5519):1115-1118.
118. HOPKIN S. P., MARTIN M. H., 1983: Heavy metals in the centipede *Lithobius variegatus* (Chilopoda). *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical*. 6 (4): 309-318.
119. HOPKIN S. P., MARTIN M. H., 1984: Assimilation of zinc, cadmium, lead and copper by the centipede *Lithobius variegatus* (Chilopoda). *Journal of Applied Ecology*. 21 (2): 535-546.
120. HOPKIN S. P., WATSON K., MARTIN M. H., MOULD M. L., 1985: The assimilation of heavy metals by *Lithobius variegates* and *Glomeris marginata* (Chilopoda; Diplopoda). *Bijdragen tot de Dierkunde*. 55: 88-94.
121. HOPKIN S. P., READ H. J., 1992: *The Biology of Millipedes*. Oxford University Press, Oxford.
122. HUANG J., LV C., HU M., ZHONG G., 2013: The mitochondria-mediate apoptosis of Lepidopteran cells induced by azadirachtin. *Plos One*. 8 (3): e58499, doi: 10.1371/journal.pone.0058499.
123. HUBERT M., 1979A: Localization and identification of mineral elements and nitrogenous waste in Diplopoda. W: Camatini M., (red.), *Myriapod biology*: 127-134. Academic Press, Inc., London.
124. HUBERT M., 1979B: L'intestin moyen de *Cylindroiulus londonensis* Leach (psylopygus Latzel) (Diplopoda, Iuloidea): observations ultrastructurales en relation avec la fonction d'accumulation. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Série D*. 289: 749-752.
125. HUBERT M., 1981: La cuticle procdodéale de *Cylindroiulus londonensis* Leach (psylopygus Latzel), (Diplopode, Iuloidea): etude ultrastructurale des depressions épicuticulaire. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle*, s. IV. 3A: 815-823.
126. HUBERT M., 1988: Le complexe anatomique et fonctionnel des cellules hépatiques-mesenteron de *Cylindroiulus londonenses* Leach (psylopygus Latzel): etude ultrastructurale et spectrographique. *Bulletin de la Société Zoologique de France*. 113 (2): 191-198.

127. HUMBERT W., 1979: The midgut of *Tomocerus minor* Lubbock (Insecta, Collembola): ultrastructure, cytochemistry, ageing and renewal during a moulting cycle. *Cell & Tissue Research*. 196 (1): 39-57.
128. HUNG C. N., LIN T. L., LEE W. Y., 2000: Morphology and ultrastructure of alimentary canal of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Hendel) (Diptera, Tephritidae): The structure of the midgut. *Zoological Studies*. 39 (4): 387-394.
129. ICELY J. D., NOTT J. A., 1992: Digestion and absorption: digestive system and associated organs. W: Harrison F. W., Humes A. G., (red.), *Microscopic anatomy of invertebrates*. Vol. 10: Decapod Crustacea: 147-201. Wiley-Liss. Inc., New York.
130. JAMES L., NATION S. R., 2015: *Insect Physiology and Biochemistry*. Third Edition. CRC Press, Boca Raton.
131. JANGI B. S., 1966: *Scolopendra* (the Indian centipede). The Zoological Society of India, Calcutta.
132. JEEKEL C. 1973: *Julus scandinavicus* Latzel, a millipede new to US fauna Diplopoda. *Julida Entomologische Berichten*. 336: 101-102.
133. JARIAL M. S., ENGSTROM L. E., 1997: Formation and ultrastructure of the peritrophic membrane in larval midge *Chironomus tentans* (Diptera, Chironomidae). *Zoological Science*. 14: 907-919.
134. JARIAL M. S., 2005: Electron microscopic study of the anterior midgut in *Cenocorixa bifida* Hung. (Hemiptera: Corixidae) with reference to its secretory function. *Zoological Science*. 22 (7): 783-790.
135. JĘDRYCZKOWSKI W., 1982: Millipedes (Diplopoda) of Warsaw and Mazovia. *Memorabilia Zoologica*. 36: 253-261.
136. JOHNSON E. W., BRIGGS D. E. G., SUTHREN R. J., WRIGHT J. L., TUNNICLIFF S. P., 1994: Nonmarine arthropod traces from the subaerial Ordovician Borrowdale Volcanic Group, English Lake District. *Geological Magazine* 131 (3): 395-406.
137. JORDÃO B. P., CAPELLA A. N., TERRA W. R., RIBEIRO A. F., FERREIRA C., 1999: Nature of the anchors of membrane-bound aminopeptidase, amylase, and trypsin and secretory mechanisms in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera) midgut cells. *Journal of Insect Physiology*. 45: 29-37.

138. JUBERTHIE-JUPEAU L., 1979: Cellular junctions in the gut of centipedes of the order Symphyla. W: Camatini M., (red.), Myriapod Biology: 121-126. Academic Press, Inc., London.
139. JURA C., 2004: Bezkręgowce. Podstawy morfologii funkcjonalnej, systematyki i filogenezy. PWN, Warszawa.
140. KAMIŃSKA K., WŁODARCZYK A., SONAKOWSKA L., OSTRÓŻKA A., MARCHEWKA A., ROST-ROSZKOWSKA M., 2016: Ultrastructure of the salivary glands in *Lithobius forficatus* (Myriapoda, Chilopoda, Lithobiidae) according to seasonal and circadian rhythms. Arthropod Structure & Development. 45 (6): 536-551.
141. KANIA G., 2011: Millipedes (Diplopoda) recorded in the town of Lublin (Poland). W: Indykiewicz P., Jerzak L., Böhner J., Kavanagh B., (red.), Urban Fauna. Studies of animal biology, ecology and conservation in European cities: 91-99. Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Bydgoszcz.
142. KANIA G., KŁAPEĆ T., 2012: Seasonal activity of millipedes (Diplopoda) – their economic and medical significance. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 19 (4): 646-650.
143. KANIA G., KOWALSKI R., PIETRAS R., 2016: Defensive secretions in millipede species of the order Julida (Diplopoda). Acta Societatis Zoologicae Bohemicae. 80: 17-20.
144. KARCH J., MOLKENTIN J. D., 2015: Regulated necrotic cell death: the passive aggressive side of Bax and Bak. Circulation Research. 116 (11): 1800-1809, doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.305421
145. KAUFMAN Z. S., 1960: The structure of the digestive tract in *Geophilus proximus* Koch (Chilopoda) (tytuł przetłumaczony). Doklady Akademii Nauk SSSR. 135: 1274-1277.
146. KAUFMAN Z. S., 1961A: Digestive tract in *Scutigera coleoptrata* L. (tytuł przetłumaczony). Doklady Akademii Nauk SSSR. 139: 1483-1486.
147. KAUFMAN Z. S., 1961B: Postembryonic development and structure of the alimentary tract in *Lithobius forficatus* L. (Chilopoda). Entomologicheskoe Obozrenie 40: 109-119.
148. KAUFMAN Z. S., 1962: The structure of digestive tract in *Scolopendra cingulata* Latr. (Chilopoda). Zoologicheskij zurnal. 41: 859-869.

149. KAUFMAN M. G., KLUG M. J., 1991: The contribution of hindgut bacteria to dietary carbohydrate utilization by crickets (Orthoptera, Gryllidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 98 (1): 117-123.
150. KELCEY J. G., (red.), 2015: *Vertebrates and invertebrates of European cities: selected non-avian fauna*. Springer-Verlag, New York.
151. KHEIRALLAH A. M. 1979A: Behavioural preference of *Julus scandinavicus* (Myriapoda) to different species of leaf litter. *Oikos*. 33: 466-471.
152. KHEIRALLAH A. M. 1979B: Seasonal variations in the feeding activity of the millipede *Julus scandinavicus* (Latzel) in natural habitat. *Revue Roumaine de Biologie*. 24 (1): 81-86.
153. KHOA D. B., TRANG L. T. D., TAKEDA M., 2012: Expression analyses of caspase-1 and related activities in the midgut of *Galleria mellonella* during metamorphosis. *Insect Molecular Biology*. 21 (2): 247-256.
154. KIME R. D., 2004: The Belgian millipede fauna (Diplopoda). *Entomologie*. 74: 35-68.
155. KIRKHAM M., NIXON S. J., HOWES M. T., ABI-RACHED L., WAKEHAM D. E., HANZAL-BAYER M., FERGUSON C., HILL M. M., FERNANDEZ-ROJO M., BROWN D. A., HANCOCK J. F., BRODSKY F. M., PARTON R. G., 2008: Evolutionary analysis and molecular dissection of caveola biogenesis. *Journal of Cell Science*. 121 (Pt 12): 2075-2086.
156. KISS A. L., 2012: Caveolae and the regulation of endocytosis. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 729: 14-28.
157. KLAG J., MESJASZ-PRZYBYŁOWICZ J., NAKONIECZNY M., AUGUSTYNIAK M., 2002: Ultrastructure of the midgut of the chrysomelid beetle *Chrysolina pardalina*. *Proceedings of the 15th International Symposium of Electron Microscopy*, 1-6 Sept. 2002, Durban. Microscopy Society of Southern Africa, South Africa: 685-686.
158. KLANN A. E., ALBERTI G., 2010: Histological and ultrastructural characterization of the alimentary system of solifuges (Arachnida, Solifugae). *Journal of Morphology*. 271 (2): 225-243.
159. KŁYSZEJKO-STEFANOWICZ L., 2002: *Cytobiochemia. Biochemia niektórych struktur komórkowych*. PWN, Warszawa.

160. KOCH M., EDGECOMBE G. D., 2006: Peristomatic structures in Scutigermorpha (Chilopoda): a comparative study, with new characters for higher-level systematics. *Zoomorphology*. 125 (4): 187-207.
161. KOCH M., EDGECOMBE G. D., 2008: The peristomatic structures of Lithobiomorpha (Myriapoda, Chilopoda): Comparative morphology and phylogenetic significance. *Journal of Morphology*. 266 (2): 153-174.
162. KOCH M., PÄRSCHKE S., ENGECOMBE G. D., 2009: Phylogenetic implications of gizzard morphology in scolopendromorph centipedes (Chilopoda). *Zoologica Scripta*. 38 (3): 269-288.
163. KOCH M., MÜLLER C. H. G., HILKEN G., ROSENBERG J., 2011: Chilopoda – Digestive system. W: Minelli A., (red.), *Treatise on Zoology - Anatomy, Taxonomy, Biology. The Myriapoda*, Vol. 1: 121-113. Brill, Leiden.
164. KOILRAJ A. J., SHARMA V. K., MARIMUTHU G., CHANDRASHEKARAN M., 2000: Presence of circadian rhythms in the locomotor activity of a cave-dwelling millipede *Glyptotendipes cavernicolus* sulu (Cambalidae, Spirostreptida). *Chronobiology International*. 17(6): 757-765.
165. KÖHLER H. R., ALBERTI G., 1992: The effect of heavy metal stress on the intestine of diplopods. *Berichte des Naturwissenschaftlich – Medizinischen Vereins in Innsbruck*. Suppl. 10: 257-267.
166. KÖHLER H. R., KÖRTJE K. H., ALBERTI G., 1995: Content, absorption quantities and intracellular storage sites of heavy metals in Diplopoda (Arthropoda). *Biometals*. 8 (1): 37-46.
167. KÖHLER H. R., 2002: Localization of metals in cells of saprophagous soil arthropods (Isopoda, Diplopoda, Collembola). *Microscopy Research and Technique*. 56 (5): 393-401.
168. KÖNIG H., VARMA A., (red.), 2006: *Intestinal Microorganisms of Termites and Other Invertebrates*, vol. 6 of the series *Soil Biology*. Springer, Berlin.
169. KSZUK-JENDRYSIK M., 2015: Ultrastruktura nabłonka jelita środkowego *Polyxenus lagurus* (Linneus, 1758) oraz *Teledinoporus aguti* (Demange, 1971) (Myriapoda, Diplopoda) ze szczególnym uwzględnieniem procesów jego degeneracji i regeneracji. Uniwersytet Śląski. Praca doktorska.
170. KUHNELT W., 1976: *Soil biology*. Michigan State University Press, East Lansing.

171. LANE N. J., DALLAI R., ASHHURST D. E., 1996: Structural macromolecules of the cell membranes and the extracellular matrices of the insect midgut. W: Lehan M. J., Billingsley P. F., (red.), Biology of the insect midgut: 115-150. Chaman & Hall, London.
172. LAVELLE P., SPAIN A.V., 2001: Soil ecology. Springer Netherlands, Dordrecht.
173. LEHANE M. J., BILLINGSLEY P. F., 1996: Biology of the insect midgut. Chapman & Hall, London.
174. LEHANE M. J., 1997: Peritrophic matrix structure and function. Annual Review of Entomology. 42: 525-550.
175. LEHANE M. J., 1998: The Midgut. W: Harrison F. W., Lock M., (red.), Microscopic Anatomy of Invertebrates. Vol. 11B: Insecta: 725-746. Wiley-Liss, Inc., New York.
176. LEITE A. C. R., EVANGELISTA L. G., 2001: Ultrastructure of endocrine cells from the abdominal midgut epithelium of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). Journal of Medical Entomology. 38 (5): 749-752.
177. LEWIS J. G. E., 1981: The biology of centipedes. Cambridge University Press, Cambridge.
178. LEWIS J. G. E., DASZAK P., JONES C. G., COTTINGHAM J. D., WENMAN E., MALJKOVIC A., 2010: Field observations on three scolopendrid centipedes from Mauritius and Rodrigues (Indian Ocean) (Chilopoda: Scolopendromorpha). International Journal of Myriapodology. 3 (1): 123-137.
179. LI X., YAO F., ZHANG W., CHENG C., CHU B., LIU Y., MEI Y., WU Y., ZOU X., HOU L., 2014: Identification, expression pattern, cellular location and potential role of the caveolin-1 gene from *Artemia sinica*. Gene. 540 (2): 161-170.
180. LIGEŻA-ŻUBER M., BOGUŚ M. I., 2014: Porównanie apoptozy występującej u kręgowców i bezkręgowców, na przykładzie owadów, z uwzględnieniem jej fizjologicznej roli w rozwoju organizmu. Postępy Biochemii. 60 (3): 334-340.
181. LIMAN N., ALAN E., 2013: The process of apoptosis in a holocrine gland as shown by the avian uropygial gland. Anatomical Record. 296 (3): 504-520.

182. LIPOVŠEK S., LETOFSKY-PAPST I., HOFER F., PABST M. A., DEVETAK D., 2012: Application of analytical electron microscopic methods to investigate the function of spherites in the midgut of the larval antlion *Euroleon nostras* (Neuroptera: Myrmeleontidae). *Microscopy Research and Technique*. 75 (4): 397-407.
183. MAKARIEVA A. M., GORSHKOV V. G., LI B. L., 2005: Gigantism, temperature and metabolic rate in terrestrial poikilotherms. *Proceedings: Biological Sciences*. 272: 2325-2328.
184. MAKAROV S. E., ĆURČIĆ B. P. M., TEŠEVIĆ V. V., JADRANIN M. B., VUJISIĆ L. V., ĆURČIĆ S. B., MANDIĆ B. M., SEKULIĆ T. L., MITIĆ B. M., 2010: Defensive secretions in three species of Polydesmids (Diplopoda, Polydesmida, Polydesmidae). *Journal of Chemical Ecology*. 36 (9): 978-982.
185. MALAGOLI D., ABDALLA F. C., CAO Y., FENG Q., FUJISAKI K., GREGORC A., MATSUO T., NEZIS I. P., PAPASSIDERI I. S., SASS M., SILVA-ZACARIN E. C. M., TETTAMANTIAND G., UMEMIYA-SHIRAFUJI R., 2010: Autophagy and its physiological relevance in arthropods. Current knowledge and perspectives. *Autophagy*. 6 (5): 575-588.
186. MANDL J., MÉSZÁROS T., BÁNHEGYI G., CSALA M., 2013: Minireview: endoplasmic reticulum stress: control in protein, lipid, and signal homeostasis. *Molecular Endocrinolog*. 27 (3): 384-393.
187. MANTON S. M., 1977: *The Arthropoda. Habits, functional morphology and evolution*. Clarendon Press, Oxford.
188. MANU M., SZEKELY L., OROMULU L. V., BARBUCEANU D., HONCIUC V., MAICAN S., FIERA C., PURICE D., ION M., 2015: Bucharest. W: Kelcey J. G., (red.), *Vertebrates and invertebrates of European cities: selected non-avian fauna*: 257-322. Springer-Verlag, New York.
189. MARI M., TOOZE S. A., REGGIORI F., 2011: The puzzling origin of the autophagosomal membrane. *F1000 Biology Reports*. 3: 1- 9.
190. MARTIN J. S., KIRKHAM J. B., 1989: Dynamic role of microvilli in peritrophic membrane formation. *Tissue and Cell*. 21 (4): 627-638.
191. MARTIN G. G., SIMCOX R., NGUYEN A., CHILINGARYAN A., 2006: Peritrophic membrane of the penaeid shrimp *Sicyonia ingentis*: structure, formation, and permeability. *Biological Bulletin*. 211: 275-285.

192. MARTÍNEZ-GIRÓN R., DOGANCI L., IRAOLA V., 2009: Gregarines in *Dermatophagoides* spp. (Acari: Pyroglyphidae): light microscopy observation. *Journal of Medical Entomology*. 46 (2): 367-368.
193. MARTINS G. F., NEVES C. A., CAMPOS L. A., SERRÃO J. E., 2006: The regenerative cells during the metamorphosis in the midgut of bees. *Micron*. 37 (2): 161-168.
194. MCMAHON H. T., BOUCROT E., 2011: Molecular mechanism and physiological functions of clathrin-mediated endocytosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 12 (8): 517-533.
195. MEHRABADIA M., BANDANIA A. R., ALLAHYARIB M., SERRÃO J. E., 2012: The Sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) digestive tract: histology, ultrastructure and its physiological significance. *Micron*. 43 (5): 631-637.
196. MERLINI V. V., NOGAROL L. R., MARIN-MORALES M. A., FONTANETTI C. S., 2012: Toxicity of trifluralin herbicide in a representative of the edaphic fauna: histopathology of the midgut of *Rhinocricus pdebergi* (Diplopoda). *Microscopy Research and Technique*. 75 (10): 1361-1369.
197. MERZENDORFER H., KELKENBERG M., MUTHUKRISHNAN S., 2016: Peritrophic matrices. W: Cohen E., Moussian B., (red.), *Extracellular composite matrices in Arthropods*: 255-324. Springer International Publishing, doi: 10.1007/978-3-319-40740-1.
198. MIGULA P., 1993: Kiedy metale ciężkie są szkodliwe. Tom VII. Fundacja ekologiczna Silesia, Katowice.
199. MIJALJICA D., PRESCOTT M., DEVENISH R. J., 2012: The Intriguing Life of Autophagosomes. *International Journal of Molecular Sciences*. 13: 3618-3635.
200. MILLER P. F., 1974: Competition between *Ophiulus pilosus* (Newport) and *Iulus scandinavicus* Latzel. *Symposia of the Zoological Society of London*. 32: 553-574.
201. MILEY H. H., 1930: Internal anatomy of *Euryrus erythropygus* (Brandt) (Diplopoda). *The Ohio Journal of Science*. 30: 229-249.
202. MINELLI A., 1993: Chilopoda. W: Harrison F. W., Rice M. E., (red.), *Microscopic Anatomy of Invertebrates*. Vol. 12: Onychophora, Chilopoda and Lesser Protostomata: 57-114. Wiley-Liss, Inc., New York.

203. MINELLI A., (red.), 2011: Treatise on Zoology – Anatomy, taxonomy, biology. The myriapoda, vol.1. Brill, Leiden.
204. MINELLI A., (red.), 2015: Treatise on Zoology – Anatomy, taxonomy, biology. The myriapoda, vol.2. Brill, Leiden.
205. MIYOSHI A. R., GABRIEL V. A., FANTAZZINI E. R., FONTANETTI C. S., 2005: Microspines in the pylorus of *Pseudonannolene tricolor* and *Rhinocricus padbergi* (Arthropoda, Diplopoda). Iheringia, Série Zoologia, Porto Alegre. 95 (2): 183-187.
206. MONTUENGA L. M., BARRENECHEA M. A., SESMA P., VÁSQUEZ J. J., 1989: Ultrastructure and immunocytochemistry of endocrine cells in the midgut of desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.). Cell and Tissue Research. 258: 577-583.
207. MORA C., TITTENSOR D. P., ADL S., SIMPSON A. G. B., WORM B., 2011: How many species are there on earth and in the ocean? PLOS Biology. 9: e1001127, doi:10.1371/journal.pbio.1001127.t002.
208. MOREIRA-DE-SOUSA C., FONTANETTI C. S., 2012: Structure and function of the foregut and salivary glands of the synanthropic diplopod *Urostreptus atrobrunneus* (Spirostreptidae). Animal Biology. 62 (4): 493-504.
209. MOREIRA-DE-SOUSA C., IAMONTE M., FONTANETTI C. S., 2016: Midgut of the diplopod *Urostreptus atrobrunneus*: structure, function, and redefinition of hepatic cells. Brazilian Journal of Biology. Doi: 10.1590/1519-6984.11715.
210. MOSS S. T., TAYLOR J., 1996: Mycobionts in the gut of millipedes – the Eccrinales. The Mycologist. 10 (3): 121-124.
211. MWABVU T., HAMER M., SLOTH R., BARRACLOUGH D., 2010: A revision of the taxonomy and distribution of *Archispirostreptus* Silvestri 1895 (Diplopoda, Spirostreptida, Spirostreptidae), and description of a new spirostreptid genus with three new species. Zootaxa. 2567: 1-49.
212. NAGATA S., SUZUKI J., SEGAWA K., FUJII T., 2016: Exposure of phosphatidylserine on the cell surface. Cell Death & Differentiation. 23 (6): 952-961.
213. NAKAMURA K., TAIRA J., HIGA Y., 2005: Internal elements of the millipede, *Chamberlinius hualienensis* Wang (Polydesmida: Paradoxosomatidae). Applied Entomology Zoology. 40: 283-288.

214. NAKATOGAWA H., MOCHIDA K., 2015: Reticulophagy and nucleophagy: new findings and unsolved issues. *Autophagy*. 11 (12): 2377-2378.
215. NARDI J. B., BEE C. M., 2001: Regenerative cells and the architecture of beetle midgut epithelia. *Journal of Morphology*. 273 (9):1010-1020.
216. NARDI J. B., BEE C. M., MILLER L. A., NGUYEN N. H., SUH S. O., BLACKWELL M., 2006: Communities of microbes that inhabit the changing hindgut landscape of a subsocial beetle. *Arthropod Structure & Development*. 35 (1): 57-68.
217. NARDI J. B., BEE C. M., TAYLOR S. J., 2016A: Compartmentalization of microbial communities that inhabit the hindguts of millipedes. *Arthropod Structure & Development*. 45 (5): 462-474.
218. NARDI J. B., MILLER L. A., BEE C. M., 2016B: A novel arrangement of midgut epithelium and hepatic cells implies a novel regulation of the insulin signaling pathway in long-lived millipedes. *Journal of Insect Physiology*. 91-92: 76-83.
219. NELSON C., BAEHRECKE E. H., 2014: Autophagy and cell death in the fly. *Methods in Enzymology*. 545: 181-199.
220. NEVES C. A., GITIRANA L. B., SERRÃO J. E., 2003: Ultrastructure of the midgut endocrine cells in *Melipona quadrifasciata anthidioides* (Hymenoptera, Apidae). *Brazilian Journal of Biology*. 63 (4): 683-690.
221. NOGAROL L. R., FONTANETTI C. S., 2010: Acute and subchronic exposure of diplopods to substrate containing sewage mud: tissular responses of the midgut. *Micron*. 41 (3): 239-246.
222. NOGAROL L. R., FONTANETTI C. S., 2011: Ultrastructural alterations in the midgut of diplopods after subchronic exposure to substrate containing sewage mud. *Water, Air & Soil Pollution*. 218 (1-4): 539-547.
223. NUNEZ F. S., CRAWFORD C. S., 1976: Digestive enzymes of the desert millipede *Orthoporus ornatus* (Girard) (Diplopoda: Spirostreptidae). *Comparative Biochemistry and Physiology*. 55A: 141-145.
224. NUNEZ F. S., CRAWFORD C. S., 1977: Anatomy and histology of the alimentary tract of the desert millipede *Orthoporus ornatus* (Girard) (Diplopoda: Spirostreptidae). *Journal of Morphology*. 151: 121-130.

225. OKUDA K., de ALMEIDA F., MORTARA R. A., KRIEGER H., MARINOTTI O., BIJOVSKY A. T., 2007: Cell death and regeneration in the midgut of the mosquito, *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Insect Physiology*. 53 (12): 1307-1315.
226. PARK M. S., PARK P., TAKEDA M., 2009: Starvation induces apoptosis in the midgut nidi of *Periplaneta americana*: a histochemical and ultrastructural study. *Cell & Tissue Research*. 335 (3): 631-638.
227. PARTON R. G., HANZAL-BAYER M., HANCOCK J. F., 2006: Biogenesis of caveolae: a structural model for caveolin-induced domain formation. *Journal of Cell Science*. 119: 787-796.
228. PEARSE B. M., 1976: Clathrin: a unique protein associated with intracellular transfer of membrane by coated vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 73 (4): 1255-1259.
229. PEREZ D. G., FONTANETTI C. S., 2011: Assessment of the toxic potential of sewage sludge in the midgut of the diplopod *Rhinocricus padbergi*. *Water, Air & Soil Pollution*. 218 (1-4): 437-444.
230. PETERS W., 1992: Peritrophic membranes. *Zoophysiology*, 30. Springer-Verlag, Berlin.
231. PIGINO G., MIGLIORINI M., PACCAGNINI E., BERNINI F., LEONZIO C., 2005: Fine structure of the midgut and malpighian papillae in *Campodea (Monocampa) quilisi* Silvestri, 1932 (Hexapoda, Diplura) with special reference to the metal composition and physiological significance of midgut intracellular electron - dense granules. *Tissue & Cell*. 37 (3): 223-232.
232. PIGINO G., MIGLIORINI M., PACCAGNINI E., BERNINI F., 2006: Localisation of heavy metals in the midgut epithelial cells of *Xenillus tegeocramus* (Herman, 1804) (Acari: Oribatida). *Ecotoxicology & Environmental Safety*. 64: 257-263.
233. PIPAN N., RAKOVEC V., 1980: Cell death in the midgut epithelium of the worker honey bee (*Apis mellifera carnica*) during metamorphosis. *Zoomorphology*. 94 (2): 217-224.
234. PIPER R. C., KATZMANN D. J., 2007: Biogenesis and function of multivesicular bodies. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*. 23: 519-547.

235. PLATEAU F., 1878: Recherches sur les phénomènes de la digestion et sur la structure de l'appareil digestif chez les Myriapodes de Belgique. Mémoires de l'Académie Royale des Sciences, des Lettres et des Beaux-Arts de Belgique. 42: 1-94.
236. POSS K. D., 2010: Advances in understanding tissue regenerative capacity and mechanisms in animals. *Nature Reviews Genetics*. 11 (10): 720-722.
237. PUNIN M. Y., KAZAKOV V. K., MKRTCHYAN L. G., 2000: Immunohistochemical detection of regulatory cells in the digestive system of leeches. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*. 36: 190-197.
238. QIAN C., DONG Y., BERNARD E. C, SUN H., 2015: Records of Pauropoda (Pauropodidae, Brachypauropodidae, Eurypauropodidae, Sphaeropauropodidae) from China, with a key to the species and descriptions of three new species of Decapauropus. *Zootaxa*. 4006 (3): 521-539.
239. RAES H., VERBEKE M., 1994: Light and electron microscopical study of two types of endocrines cell in the midgut of the adult worker honeybee (*Apis mellifera*). *Tissue Cell*. 26 (2): 223-230.
240. RAES H., VERBEKE M., MEULEMANS W., COSTER W. D., 1994: Organisation and ultrastructure of the regenerative crypts in the midgut of the adult worker honeybee (L. *Apis mellifera*). *Tissue Cell*. 26 (2): 231-238.
241. RAMANATHAN B., ALAGESAN P., 2012: Isolation, characterization and role of gut bacteria of three different millipede species. *Indian Journal of Scientific Research*. 3 (2): 55-61.
242. RAVINDRANATH M. H., 1973: The hemocytes of a millipede, *Thyropygus poseidon*. *Journal of Morphology*. 141: 257-267.
243. REINHARDT C. H., 1976: Ultrastructural comparison of the midgut epithelia of fleas with different feeding behavior patterns (*Xenopsylla cheopis*, *Echidnophaga gallinacea*, *Tunga penetrans*, Siphonaptera, Pulicidae). *Acta Tropica*. 3: 105-132.
244. RETALLACK G. J., 2000: Ordovician life on land and early Paleozoic global change. *Paleontological Society Papers*. 6: 21-45.
245. RETALLACK G. J., 2001: *Scoyenia burrows* from Ordovician palaeosols of the Juniata Formation in Pennsylvania. *Palaeontology*. 44 (2): 209-235.
246. RILLING G., 1968: *Lithobius forficatus*. Grosses Zoologisches Praktikum 13b. Gustav Fischer, Stuttgart.

247. ROBERTSON A. S., SMYTHE E., AYSCOUGH K. R., 2009: Functions of actin in endocytosis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 66: 2049-2065.
248. ROELFSTRA L., VLIMANT M., BETSCHART B., PFISTER K., DIEHL P. A., 2010: Light and electron microscopy studies of the midgut and salivary glands of second and third instars of the horse stomach bot, *Gasterophilus intestinalis*. *Medical and Veterinary Entomology*. 24 (3): 236-249.
249. ROMANELLI D., CASARTELLI M., CAPPELLOZZA S., de EGUILEOR M., TETTAMANTI G., 2016: Roles and regulation of autophagy and apoptosis in the remodelling of the lepidopteran midgut epithelium during metamorphosis. *Scientific Reports*. 6: 32939, doi:10.1038/srep32939.
250. ROSENBERG J., 2009: Die Hundertfüßer (Chilopoda). Die Neue Brehm-Bücherei Bd. 285. Westarp, Hohenwarsleben.
251. ROST M. M., 2006A: Comparative studies on regeneration of the midgut epithelium in *Lepisma saccharina* L. and *Thermobia domestica* Packard (Insecta; Zygentoma). *Annals of the Entomological Society of America*. 99 (5): 910-916.
252. ROST M. M., 2006B: Ultrastructural changes in the midgut epithelium in *Podura aquatica* L. (Insecta, Collembola, Arthropleona) during regeneration. *Arthropod Structure and Development*. 35 (1): 69-76.
253. ROST-ROSZKOWSKA M. M., POPRAWA I., ŚWIĄTEK P., 2007A: Ultrastructural changes in the midgut epithelium of the first larva of *Allacma fusca* (Insecta, Collembola, Symphypleona). *Invertebrate Biology*. 126: 366-372.
254. ROST-ROSZKOWSKA M. M., PIŁKA M., SZYMSKA R., KLAG J., 2007B: Ultrastructural studies of midgut epithelium formation in *Lepisma saccharina* L. (Insecta, Zygentoma). *Journal of Morphology*. 268: 224-231.
255. ROST-ROSZKOWSKA M. M., KUBALA A., NOWAK B., PILARCZYK S., KLAG J., 2007C: Ultrastructure of alimentary tract formation in embryos of two insect species: *Melasoma saliceti* and *Chrysolina pardalina* (Coleoptera, Chrysomelidae). *Arthropod Structure and Development*. 36 (3): 351-360.
256. ROST-ROSZKOWSKA M. M., 2008A: Degeneration of the midgut epithelium of *Allacma fusca* L. (Insecta, Collembola, Symphypleona): apoptosis and necrosis. *Zoological Science*. 25 (7): 753-759.

257. ROST-ROSZKOWSKA M. M., 2008B: Ultrastructural changes in the midgut epithelium of *Acheta domesticus* L. (Orthoptera, Gryllidae) during degeneration and regeneration. *Annals of the Entomological Society of America*. 101 (1): 151-158.
258. ROST-ROSZKOWSKA M. M., UNDRUL A., 2008: Fine structure and differentiation of the midgut epithelium of *Allacma fusca* (Insecta, Collembola, Symphypleona). *Zoological Studies*. 47 (2): 200-206.
259. ROST-ROSZKOWSKA M. M., POPRAWA I., KLAG J., MIGULA P., MESJASZ-PRZYBYŁOWICZ J., PRZYBYŁOWICZ W., 2008A: Degeneration of the midgut epithelium in *Epilachna cf. nylanderi* (Insecta, Coccinellidae): apoptosis, autophagy and necrosis. *Canadian Journal of Zoology*. 86 (10): 1179-1188.
260. ROST-ROSZKOWSKA M. M., CHECHELSKA A., FRĄDCZAK M., SALITRA K., 2008B: Ultrastructure of two types of endocrine cells in the midgut epithelium of *Spodoptera exiqua* Hübner 1808 (Insecta, Lepidoptera, Noctuidae). *Zoologica Poloniae*. 53 (1-4): 27-35.
261. ROST-ROSZKOWSKA M. M., POPRAWA I., CHACHULSKA-ŻYMEŁKA A. 2010A: Apoptosis and autophagy in the midgut epithelium of *Acheta domesticus* (Insecta, Orthoptera, Gryllidae). *Zoological Science*. 27 (9): 740-745.
262. ROST-ROSZKOWSKA M. M., POPRAWA I., KLAG J., MIGULA P., MESJASZ-PRZYBYŁOWICZ J., PRZYBYŁOWICZ W., 2010B: Differentiation of regenerative cells in the midgut epithelium of *Epilachna cf. nylanderi* pheromone (Mulsant 1850) (Insecta, Coleoptera, Coccinellidae). *Folia Biologica, Kraków*. 58 (3-4): 209-216.
263. ROST-ROSZKOWSKA M. M., VILIMOVA J., CHAJEC Ł., 2010C: Fine structure of the midgut epithelium of *Atelura formicaria* (Hexapoda: Zygentoma: Ateluridae), with special reference to its regeneration and degeneration. *Zoological Studies*. 49 (1): 10-18.
264. ROST-ROSZKOWSKA M. M., VILIMOVA J., CHAJEC Ł., 2010D: Fine structure of the midgut epithelium of *Nicoletia phytophila* Gervais, 1844 (Zygentoma: Nicoletiidae: Nicoletiinae) with the special emphasis on its degeneration. *Folia Biologica, Kraków*. 58 (3-4): 217-227.

265. ROST-ROSZKOWSKA M. M., JANSTA P., VILIMOVA J., 2010E: Fine structure of the midgut epithelium in two Archaeognatha, *Lepismachilis notata* and *Machilis hrabei* (Insecta) in relation to its degeneration and regeneration. *Protoplasma*. 247 (1-2): 91-101.
266. ROST-ROSZKOWSKA M. M., MACHIDA R., FUKUI M. 2010F: The role of cell death in the midgut epithelium in *Filientomon takanawanum* (Protura). *Tissue and Cell*. 42: 24-31.
267. ROST-ROSZKOWSKA M. M., VILIMOVA J., SOSINKA A., SKUDLIK J., FRANZETTI E., 2012: The role of autophagy in the midgut epithelium of *Eubbranchipus grubii* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca). *Arthropod Structure and Development*. 41: 271-279.
268. ROST-ROSZKOWSKA M. M., POPRAWA Ł., KACZMAREK Ł., 2013: Autophagy as the cell survival in response to a microsporidian infection of the midgut epithelium of *Isohypsibius granulifer granulifer* (Eutardigrada: Hypsibiidae). *Acta Zoologica Stockholm*. 94 (3): 273-279.
269. ROST-ROSZKOWSKA M. M., CHAJEC Ł., VILIMOVA J., TAJOVSKÝ K., KSZUK-JENDRYSIK M., 2015A: Does autophagy in the midgut epithelium of centipedes depend on the day/night cycle? *Micron*. 68: 130-139.
270. ROST-ROSZKOWSKA M. M., ŚWIĄTEK P., POPRAWA I., RUPIK W., SWADŹBA E., KSZUK-JENDRYSIK M., 2015B: Ultrastructural analysis of apoptosis and autophagy in the midgut epithelium of *Piscicola geometra* (Annelida, Hirudinida) after blood feeding. *Protoplasma*. 252 (5): 1387-1396.
271. ROST-ROSZKOWSKA M. M., CHAJEC Ł., VILIMOVA J., TAJOVSKY K., 2016A: Apoptosis and necrosis during the circadian cycle in the centipede midgut. *Protoplasma*. 253 (4): 1051-1061.
272. ROST-ROSZKOWSKA M. M., VILIMOVA J., WŁODARCZYK A., SONAKOWSKA L., KAMIŃSKA K., KASZUBA F., MARCHEWKA A., SADÍLEK D., 2016B: Investigation of the midgut structure and ultrastructure in *Cimex lectularius* and *Cimex pipistrelli* (Hemiptera: Cimicidae). *Neotropical Entomology*. Doi: 10.1007/s13744-016-0430-x.
273. ROST-ROSZKOWSKA M. M., KSZUK-JENDRYSIK M., MARCHEWKA A., POPRAWA I., 2017A: Fine structure of the midgut epithelium in the millipede *Telodeinopus aoutii* (Myriapoda, Diplopoda) with the special emphasis on epithelial regeneration. *Maszynopis przesłany do publikacji*.

274. ROST-ROSZKOWSKA M. M., VILIMOVÁ J., TAJOVSKÝ K., ŠUSTR V., SOSINKA A., KSZUK-JENDRYSIK M., OSTRÓŽKA A., KASZUBA F., KAMIŃSKA K., MARCHEWKA A. 2017B: The ultrastructure of the hepatic cells in millipedes (Myriapoda, Diplopoda). Maszynopis przesłany do publikacji.
275. RUDNICKA K. W., SZCZĘSNA E., MISZCZYK E., MIKOŁAJCZYK-CHMIEL A., 2011: Apoptoza i autofagia – mechanizmy i metody detekcji. *Postępy biologii komórki*. 38 (2): 247-265.
276. SAKWA W. N., 1974: A consideration of the chemical basis of food preference in millipedes. *Symposia of the Zoological Society of London*. 32: 329-346.
277. SANTOS C. D., RIBEIRO A. F., TERRA W. R., 1986: Differential centrifugation, calcium precipitation and ultrasonic disruption of midgut cells of *Erinnyis ello* caterpillars. Purification of cell microvilli and inferences concerning secretory mechanisms. *Canadian Journal of Zoology*. 64: 490-500.
278. SCHELLER U., PFLIEGLER W. P., KORSÓS Z., 2015: Pauropoda (Myriapoda) records from hungary with description of a new species. *Acta Zoologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 61 (2): 81-86.
279. SCHLÜTER U., 1980A: Die Feinstruktur der Pylorusdrüsen von *Polydesmus angustus* Latzel und *Glomeris marginata* Villers (Diplopoda). *Zoomorphology*. 94: 307-319.
280. SCHLÜTER U., 1980B: Ultrastruktur der Pyloruszähnnchen zweier Tausendfüßler (*Tachypodoiulus niger*, *Polydesmus angustus*). *Acta Zoologica*, Stockholm. 61: 171-178.
281. SCHLÜTER U., 1980C: Cytopathological alterations in the hindgut of a millipede induced by atypical diet. *Journal of Invertebrate Pathology*. 36: 133-135.
282. SCHLÜTER U., 1982: The anal glands of *Rhapidostreptus virgator* (Diplopoda: Spirostreptidae). *Zoomorphology*, 100 (1): 65-73.
283. SCHLÜTER U., 1983: The anal glands of *Rhapidostreptus virgator* (Diplopoda, Spirostreptidae) – appearance during a moult. *Zoomorphology*. 102 (1): 79-86.
284. SCHLÜTER U., SEIFERT G., 1985: Functional morphology of the hindgut-malpighian tubule complex in *Polyxenus lagurus* (Diplopoda; Penicillata). *Bijdragen tot de Dierkunde*. 55: 209-218.
285. SEHNAL F., ŽITŇNAN D., 1996: Midgut endocrine cells. W: Lehane M. J., Billingsley P. F., (red.), *Biology of the insect midgut*: 55-85. Chaman & Hall, London.

286. SEIFERT G., 1967: Der Pharynxapparat von *Scutigera coleoptrata* L. Zeitschrift Morphologie und Ökologie der Tiere. 58: 347-354.
287. SEIFERT G., ROSENBERG J., 1977: Feinstruktur der Leberzellen von *Oxidus gracilis* (C. L. Koch, 1847) (Diplopoda, Paradoxosomatidae). Zoomorphologie. 88: 145-162.
288. SELDEN P., READ H., 2008: The oldest land animals: Silurian millipedes from Scotland. Bulletin of the British Myriapod & Isopod Group. 23: 36-37.
289. SERRÃO J. E., CRUZ-LANDIM C., 1996A: A comparative study of digestive cells in different midgut regions of stingless bees (Hymenoptera: Apidae: Meliponinae). Journal of Advanced Zoology. 17: 1-6.
290. SERRÃO J. E., CRUZ-LANDIM, C., 1996B: Ultrastructure of midgut endocrine cells in workers of stingless bee (Hymenoptera, Apidae, Meliponinae). Iheringia Série Zoologia, Porto Alegre. 81: 151-156.
291. SHAN S. G., LIU K. Y., PENG J. X., YAO H. C., LI Y., HONG H. Z., 2009: Mitochondria are involved in apoptosis induced by ultraviolet radiation in lepidopteran *Spodoptera litura* cell line. Insect Science. 16: 485-491.
292. SHAO L., DEVENPORT M., JACOBS-LORENA M., 2001: The peritrophic matrix of hematophagous insects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology. 47 (2): 119-125.
293. SHEAR W. A., EDGECOMBE G. D., 2010: The geological record and phylogeny of the Myriapoda. Arthropod Structure & Development. 39: 174-190.
294. SHELLEY R. M., 2002: A revised, annotated, family-level classification of the Diplopoda. Arthropoda Selecta. 11 (3): 187-207.
295. SHELLEY R. M., 2007: Taxonomy of extant Diplopoda (millipeds) in the modern era: Perspectives for future advancements and observations on the global diplopod community (Arthropoda: Diplopoda). Zootaxa. 1668: 343-362.
296. SHEN H. M., CODOGNO P., 2012: Autophagy is a survival force via suppression of necrotic cell death. Experimental Cell Research. 318 (11): 1304-1308.
297. SHUKLA G. S., 1962: Digestive system of *Scolopendra morsitans* L. Proceedings of the Indian Science Congress. 49: 411.
298. SHUKLA G. S., 1964: Studies on *Scolopendra morsitans* Linn., Part II: Digestive and excretory systems. Entomologische Berichten. 24: 55-60.

299. SHUKLA G. S., SHUKLA S. C., 1980: Morphology of the alimentary canal of millipede *Trigoniulus lumbricinus* (Gerstäcker) (Diplopoda). Deutsche Entomologische Zeitschrift. 27 (1-3): 51-55.
300. SIERWALD P., BOND J. E., 2007: Current status of the myriapod class Diplopoda (millipedes): Taxonomic diversity and phylogeny. Annual Review of Entomology. 52: 401-420.
301. SIKORA E., 1994: Mechanizmy śmierci programowanej komórek (apoptozy). Postępy Biochemii. 40: 150-159.
302. SILVA C. P., RIBEIRO A. F., GULBENKIAN S., TERRA W. R., 1995: Organization, origin and function of the outer microvillar (perimicrovillar) membranes of *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera) midgut cells. Journal of Insect Physiology. 41: 1093-1103.
303. SILVA M. T., VALE A., SANTOS N., 2008: Secondary necrosis in multicellular animals: an outcome of apoptosis with pathogenic implications. Apoptosis. 13 (4): 463-482.
304. SILVA M. T., 2010: Secondary necrosis: the natural outcome of the complete apoptotic program. FEBS Letters. 584 (22): 4491-4499.
305. SILVA W., CARDOSO C., RIBEIRO A. F., TERRA W. R., FERREIRA C., 2013: Midgut proteins released by microapocrine secretion in *Spodoptera frugiperda*. Journal of Insect Physiology. 59: 70-80.
306. SILVA-OLIVARES A., DÍAZ E., SHIBAYAMA M., TSUTSUMI V., CISNEROS R., ZÚÑIGA G., 2003: Ultrastructural study of the midgut and hindgut in eight species of the genus *Dendroctonus* Erichson (Coleoptera: Scolytidae). Annals of the Entomological Society of America. 96 (6): 883-900.
307. da SILVA SOUZA T., FONTANETTI S. C., 2011: Morphological biomarkers in the *Rhinocricus padbergi* midgut exposed to contaminated soil. Ecotoxicology and Environmental Safety. 74: 10-18.
308. da SILVA SOUZA T., de FRANCESCHI de ANGELIS D., FONTANETTI C. S., 2011: Histological and histochemical analysis of the fat body of *Rhinocricus padbergi* (Diplopoda) exposed to contaminated industrial soil. Water, Air, & Soil Pollution. 221 (1): 235-244.
309. da SILVA SOUZA T., CHRISTOFOLETTI C. A., BOZZATTO V., FONTANETTI C. S., 2014: The use of diplopods in soil ecotoxicology – a review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 103: 68-73.

310. SINGOTAM I., DASS C. M. S., 1977: Studies on the eugregarine, *Grebneckiella pixellae* Misra, parasitic in the midgut of the centipede *Scolopendra morsitans* Linn.: Pt 1 – scanning electron microscope studies on the stages in the life history. Indian Journal of Experimental Biology. 15: 719-727.
311. SONAKOWSKA L., WŁODARCZYK A., POPRAWA I., BINKOWSKI M., ŚRÓBKA J., KAMIŃSKA K., KSZUK-JENDRYSIK M., CHAJEC Ł., ZAJUSZ B., ROST-ROSZKOWSKA M. M., 2015: Structure and ultrastructure of the endodermal region of the alimentary tract in the freshwater shrimp *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca). Ploze One. 10 (5): e0126900, doi: 10.1371/journal.pone. 0126900.
312. SONAKOWSKA L., WŁODARCZYK A., WILCZEK G., WILCZEK P., STUDENT S., ROST-ROSZKOWSKA M. M., 2016: Cell death in the epithelia of the intestine and hepatopancreas in *Neocaridina heteropoda* (Crustacea, Malacostraca). Plos One. 11(2): e0147582. doi:10.1371/journal.pone.0147582.
313. SOSINKA A., ROST-ROSZKOWSKA M. M., VILIMOVA J., TAJOVSKÝ K., KSZUK-JENDRYSIK M., CHAJEC Ł., SONAKOWSKA L., KAMIŃSKA K., HYRA M., POPRAWA I., 2014: The ultrastructure of the midgut epithelium in millipedes (Myriapoda, Diplopoda). Arthropod Structure & Development. 43: 477-492.
314. de SOUSA G., CONTE H., 2013: Midgut morphophysiology in *Sitophilus zeamais* Motschulsky, 1855 (Coleoptera: Curculionidae). Micron. 51: 1-8.
315. de SOUZA R. B., FONTANETTI C. S., 2012: Alterations in the fat body cells of *Rhinocricus padbergi* (Diplopoda) resulting from exposure to substrate containing sewage sludge. Microscopy and Microanalysis. 18 (2): 317-323.
316. SRIVASTAVA C. N., 1997: Morpho-histological studies on the digestive system of *Gryllus domesticus* (Linn.) (Orthoptera: Gryllidae). Journal of Entomological Research Year. 21 (4): 321-328.
317. SRIVASTAVA P. D., SRIVASTAVA Y. N., 1967: *Orthomorpha* sp., a new predatory millipede on *Achatina fulica* in the Andamans. Experientia. 23: 776.
318. STEPIEŃ A., IZDEBSKA M., GRZANKA A., 2007: Rodzaje śmierci komórki. Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej. 61: 420-428.

319. SUNDARA RAJULU G., 1970A: Studies on the nature of carbohydrases in a centipede *Scolopendra heros*, together with observations of hydrogen ion concentration of the alimentary tract. *Journal of Animal Morphology and Physiology*. 17: 56-64.
320. SUNDARA RAJULU G., 1970B: Presence of caecal outgrowths in the alimentary canal of a centipede *Ethmostigmus spinosus* Newport (Chilopoda, Myriapoda). *Current Science*. 24: 564-565.
321. ŠUSTR V., TAJOVSKÝ K., SEMANOVÁ S., Chroňáková A., ŠIMEK M., 2013: The giant African millipede, *Archispirostreptus gigas* (Diplopoda: Spirostreptida), a model species for ecophysiological studies. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae*. 77: 145-158.
322. SUWANSA-ARD S., KANKUAN W., THONGBUAKAEW T., SAETAN J., KORNTONG N., KRUANGKUM T., KHORNCHATRI K., CUMMINS S. F., ISIDORO C., SOBHON P., 2016: Transcriptomic analysis of the autophagy machinery in crustaceans. *BMC Genomics*. 17: 587, doi: 10.1186/s12864-016-2996-4.
323. SZABO I. M., NASSER E.-G. A., STRIGANOVA B., RAKHMO Y. R., JAGER K., HEYDRICH M., 1992: Interactions among Millipedes (Diplopoda) and their intestinal bacteria. *Berichte des naturwissenschaftlichen-medizinischen Verein Innsbruck*. 10: 289-296.
324. SZKLARZEWICZ T., TYLEK W., 1987: Ultrastructure of midgut epithelial cells of *Campodea sp.* (Diplura). *Acta Biologica Cracoviensia, Series Zoologica*. 29: 127-131.
325. SZWAMWICZ B., 1959: *Entomologia ogólna*. PWRiL, Warszawa.
326. TAJOVSKY K., 1992: Feeding biology of the millipede *Glomeris hexasticha* (Glomeridae, Diplopoda). *Berichte des Naturwissenschaftlich – Medizinischen Vereins in Innsbruck. Suppl.* 10: 305-311.
327. TAKAKUWA Y., 1955: Morphology and classification of the Scutigera, with a memory of the late Dr. Asajiro Oka (in Japanese). Gakufu-Shoin Publisher, Tokyo.
328. TAKASHIMA S., GOLD D., HARTENSTEIN V., 2013: Stem cells and lineages of the intestine: a developmental and evolutionary perspective. *Development Genes and Evolution*. 223 (1): 85-102.

329. TANAKA E. M., REDDIEN P. W., 2011: The cellular basis for animal regeneration. *Developmental Cell*. 21 (1): 172-185.
330. TEIXEIRA DAS DORES A., DO CARMO QUEIROZ FIALHO M., ZANUNCIO J. C., de SOUZA RAMALHO F., SERRÃO J. E., 2013: Degeneration and cell regeneration in the midgut of *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae) during postembryonic development. *Arthropod Structure & Development*. 42: 237-246.
331. TELLAM R. L., WIJFFELS G., WILLADSEN P., 1999: Peritrophic matrix proteins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 29 (2): 87-101.
332. TERRA W. R., 2001: The origin and functions of the insect peritrophic membrane and peritrophic gel. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 47 (2): 47-61.
333. TERRA W. R., FERREIRA C., 2012: Biochemistry and molecular biology of digestion. W: Lawrence Gilbert I., (red.), *Insect Molecular Biology and Biochemistry*, 1st edition: 366-418. Elsevier, London.
334. TETTAMANTI G., GRIMALDI A., CASARTELLI M., AMBROSETTI E., PONTI B., CONGIU T., FERRARESE R., RIVAS-PENA M. L., PENNACCHIO F., de EGUILEOR M., 2007: Programmed cell death and stem cell differentiation are responsible for midgut replacement in *Heliothis virescens* during prepupal instar. *Cell & Tissue Research*. 330 (2): 345-359.
335. TIEGS O. W., 1947: The development and affinities of the Pauropoda, based on a study of *Pauropus silvaticus*. Pt II. *The Quarterly Journal of Microscopical Science*. 88 (2): 275-336.
336. TOPRAK U., ERLANDSON M., HEGEDUS D., 2010: Peritrophic matrix proteins. *Trends in Entomology*. 6: 23-51.
337. TOOZE S. A. 2013: Current views on the source of the autophagosome membrane. *Essays in Biochemistry*. 55: 29-38.
338. TOYOTA A., KANEKO N., ITO M. T., 2006: Soil ecosystem engineering by the train millipede *Parafontaria laminata* in a Japanese larch forest. *Soil Biology & Biochemistry*. 38: 1840-1850.
339. TRACY K., BAEHRECKE E. H., 2013: The role of autophagy in *Drosophila* metamorphosis. *Current Topics in Developmental Biology*. 103: 101-125.

340. TUF I. H., TUFOVÁ J., JEŘÁBKOVÁ E., DEDEK P., 2006: Diurnal epigeic activity of myriapods (Chilopoda, Diplopoda). *Norwegian Journal of Entomology*. 53: 335-344.
341. UNEP, 1998: Eastern Africa Atlas of Coastal Resources: Kenya. United Nations Environment Programme, Nairobi
342. UPTON S. J., CRAWFORD C. S., HOFFMAN R. L., 1983: A new species of thelastomatid (Nematoda: Thelastomatidae) from the desert millipede *Orthoporus ornatus* (Diplopoda: Spirostreptidae). *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 50: 69-82.
343. URBANEK A., ROST-ROSZKOWSKA M. M., 2015: Ultrastructural studies on the midgut of biting midge *Forcipomyia nigra* (Winnertz) (Diptera: Ceratopogonidae). *Micron*. 69: 25-34.
344. UWO M. F., UI-TE K., PARK P., TAKEDA M., 2002: Replacement of midgut epithelium in the greater wax moth, *Galleria mellonella*, during larval-pupalmoult. *Cell and Tissue Research*. 308: 319-331.
345. VAIDYANATHAN R., SCOTT T. W., 2006: Apoptosis in mosquito midgut epithelia associated with West Nile virus infection. *Apoptosis*. 11 (9): 1643-1651.
346. VALIGUROVÁ A., 2012: Sophisticated adaptations of *Gregarina cuneata* (Apicomplexa) feeding stages for epicellular parasitism. *Plos One*. 7 (8): e42606, doi:10.1371/journal.pone.0042606.
347. VANDENBULCKE F., GRELLE C., FABRE M. C., DESCAMPS M., 1998A: Implication of the midgut of the centipede *Lithobius forficatus* in the heavy metal detoxification process. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. *Environmental Research, Section B*. 41 (3): 258-268.
348. VANDENBULCKE F., GRELLE C., FABRE M. C., DESCAMPS M., 1998B: Ultrastructural and autometallographic studies of the nephrocytes of *Lithobius forficatus* L. (Myriapoda, Chilopoda): role in detoxification of cadmium and lead. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*. 27 (2): 111-120.
349. VILISICS F., BOGYÓ D., SATTTLER T., MORETTI M., 2012: Occurrence and assemblage composition of millipedes (Myriapoda, Diplopoda) and terrestrial isopods (Crustacea, Isopoda, Oniscidea) in urban areas of Switzerland. *Zookeys*. 176: 199-214.

350. VOIGTLÄNDER K. 2011: Preferences of common central European millipedes for different biotope types (Myriapoda, Diplopoda) in Saxony-Anhalt (Germany). *International Journal of Myriapodology*. 6: 61-83.
351. WANG P., GRANADOS R. R., 2001: Molecular structure of the peritrophic membrane (PM): identification of potential PM target sites for insect control. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. 47 (2): 110-118.
352. WENNING A. 1979: Structure and function of the hindgut of *Lithobius forficatus* L. (Myriapoda, Chilopoda). W: Camatini M., (red.): *Myriapod biology*: 135-142. Academic Press, London.
353. WILCZEK G., ROST-ROSZKOWSKA M. M., WILCZEK P., BABCZYŃSKA A., SZULIŃSKA E., SONAKOWSKA L., MAREK-SWĘDZIOŁ M., 2014: Apoptotic and necrotic changes in the midgut glands of the wolf spider *Xerolycosa nemoralis* (Lycosidae) in response to starvation and dimethoate exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 101: 157-167.
354. WILSON H. M., ANDERSON L. I., 2004: Morphology and taxonomy of Paleozoic millipedes (Diplopoda: Chilognatha: Archipolypoda) from Scotland. *Journal of Paleontology*. 78 (1): 169-184.
355. WILSON H. M., 2006: Juliformian millipedes from the Lower Devonian of Euramerica: Implications for the timing of millipede cladogenesis in the Paleozoic. *Journal of Paleontology*. 80 (4): 638-649.
356. WOJEWÓDZKA U., GAJKOWSKA B., JURKIEWICZ J., GNIADOCKI R., 2005: Lipid microdomain (lipid rafts) in cell membrane: structure, physiology and its role in pathological processes. *Postępy Biologii Komórki*. 32 (2): 293-309.
357. WOOLFOLK S. W., COHEN A. C., INGLIS G. D., 2004: Morphology of the alimentary canal of *Chrysoperla rufilabris* (Neuroptera: Chrysopidae) adults in relation to microbial symbionts. *Annals of the Entomological Society of America*. 97 (4): 796-808.
358. XYLANDER W. E. R., 1992: Immune defense reactions of Myriapoda – a brief presentation of recent results. *Berichte des Naturwissenschaftlich – Medizinischen Vereins in Innsbruck*. Suppl. 10: 101-110.
359. XYLANDER W. E. R., NEVERMANN L., 1993: Phenoloxidase-active hemocytes in *Lithobius forficatus*, *Scolopendra cingulata* (Chilopoda) and *Chicobolus* spec. (Diplopoda). *Verhandlungen der Deutschen Zoologischen Gesellschaft*. 86.1: 197.

360. XYLANDER W. E. R., 2009A: Antibacterial substances and characteristics of the haemolymph of Chilopoda and Diplopoda (Myriapoda, Arthropoda). *Soil Organisms*. 81 (3): 413-429.
361. XYLANDER W. E. R., 2009B: Hemocytes in Myriapoda (Arthropoda): a review. *Invertebrate Survival Journal*. 6 (2): 114-124.
362. ZHANG G., HUA B., 2014: Fine structure of the midgut of *Sinopanorpa tinctoria* (Navás) (Mecoptera: Panorpidae). *Tissue Cell*. 46 (5): 388-396.

UNIwersytet Śląski
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Katedra Histologii i Embriologii Zwierząt

AGNIESZKA SOSINKA

ULTRASTRUKTURA NABŁONKA JELITA ŚRODKOWEGO WYBRANYCH
GATUNKÓW DWUPARCÓW (MYRIAPODA, DIPLOPODA) ZE SZCZEGÓLNYM
UWZGLĘDNIENIEM PROCESÓW JEGO DEGENERACJI ORAZ REGENERACJI

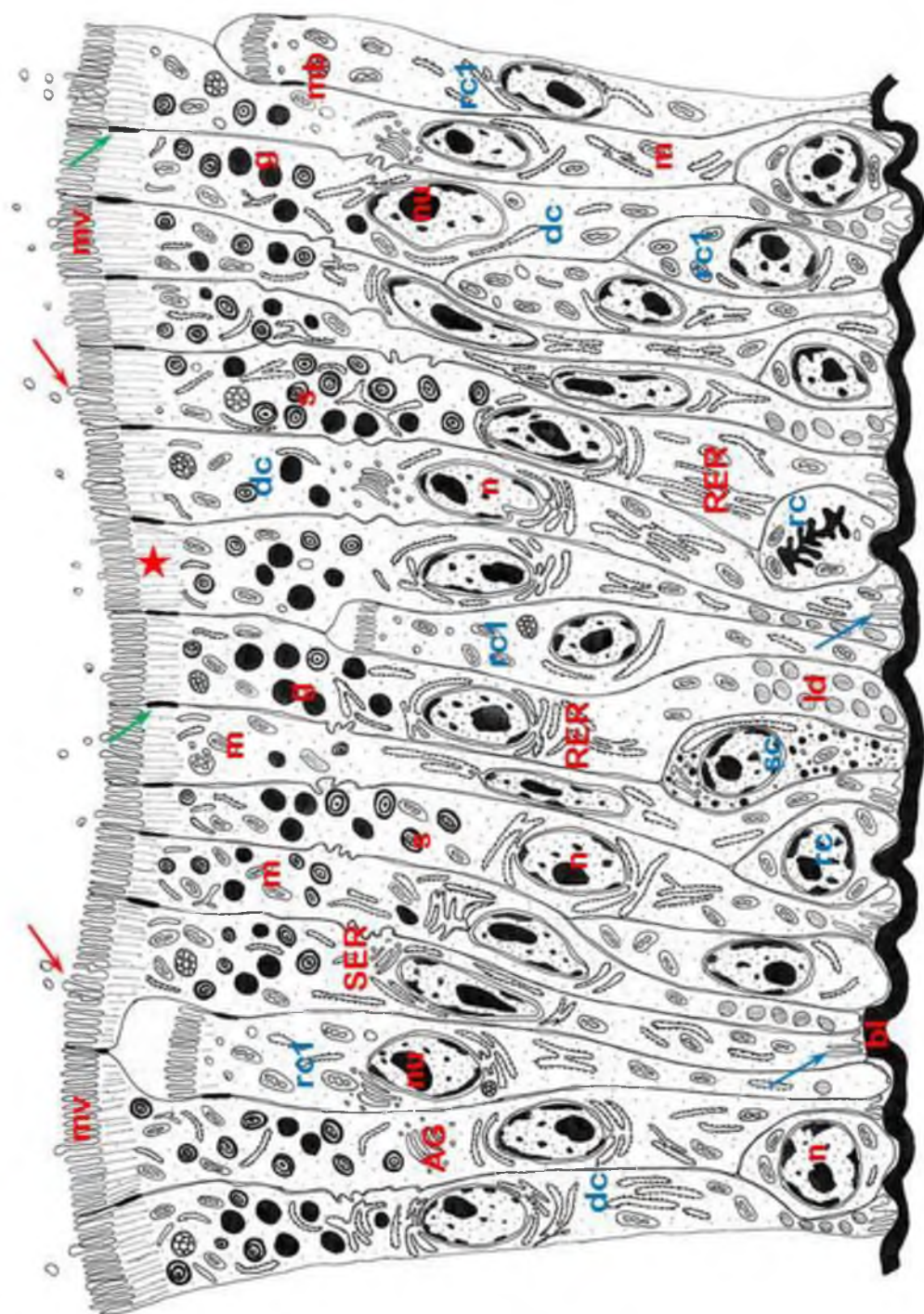
Część II

Praca doktorska wykonana pod kierunkiem
DR HAB. PROF. UŚ MAGDALENY ROST-ROSZKOWSKIEJ

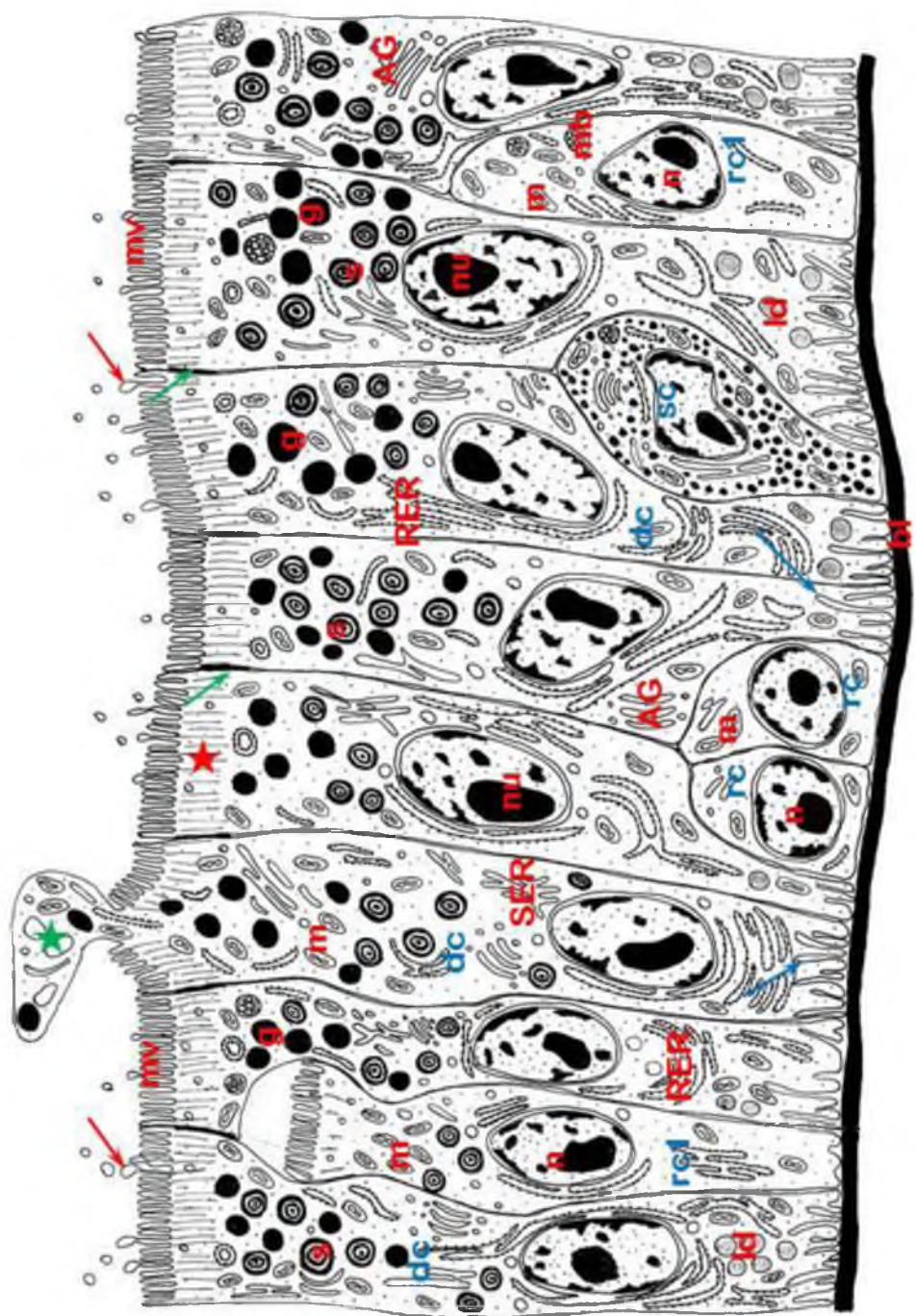
KATOWICE 2017

RYCINY I ICH OPISY

Ryc. 1. Schemat budowy jednowarstwowego, wielorzędownego nabłnka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*. Aparat Goldiego (**AG**), błna podstawna (**bl**), ciała wielopęcherzykowe (**mb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), granule (**g**), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), komórka regeneracyjna (**rc**), komórka różnicująca się (**rc1**), komórka trawienna (**dc**), komórka wydzielnicza (**sc**), krople lipidowe (**ld**), mikrokosmki (**mv**), mitochondria (**m**), połączenia międzykomórkowe ciągłe (**zielone →**), sferyty (**s**), warstwa korowa (**★**), wpuklenia błony bazalnej (**niebieskie →**), wydzielanie mikroapokrynowe (**czerwone →**).



Ryc. 2. Schemat budowy jednowarstwowego, wielorzędownego nabłonka jelita środkowego *Julus scandinavius*. Aparat Goldiego (**AG**), błona podstawna (**bl**), ciała wielopęcherzykowe (**mb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), granule (**g**), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), komórka regeneracyjna (**rc**), komórka różnicująca się (**rc1**), komórka trawienna (**dc**), komórka wydzielnicza (**sc**), krople lipidowe (**ld**), mikrokosmki (**mv**), mitochondria (**m**), połączenia międzykomórkowe ciągłe (**zielone →**), sferyty (**s**), warstwa korowa (**czerwona ★**), wpuklenia błony bazalnej (**niebieskie →**), wydzielanie apokrynowe (**zielona ★**) wydzielanie mikroapokrynowe (**czerwone →**).



FOTOGRAFIE I ICH OPISY

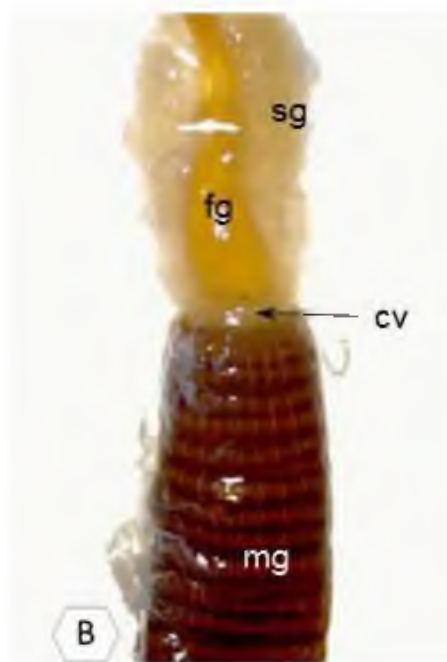
Fot. 1. Dorosłe osobniki analizowanych gatunków krocionogów (Diplopoda).

- A.** *Archispirostreptus gigas* Peters 1855, pow. x 0,8.
- B.** *Julus scandinavus* Latzel 1884, pow. x 6.
- C.** Pozycja obronna *Archispirostreptus gigas*, charakterystyczna dla wszystkich przedstawicieli Juliformia, pow. x 0,9.
- D.** Widoczna masywna głowa i liczne odnóża przedstawiciela *Archispirostreptus gigas*, jako przystosowania do drążenia tuneli w glebie. Oko złożone (→), pow. x 1,2.



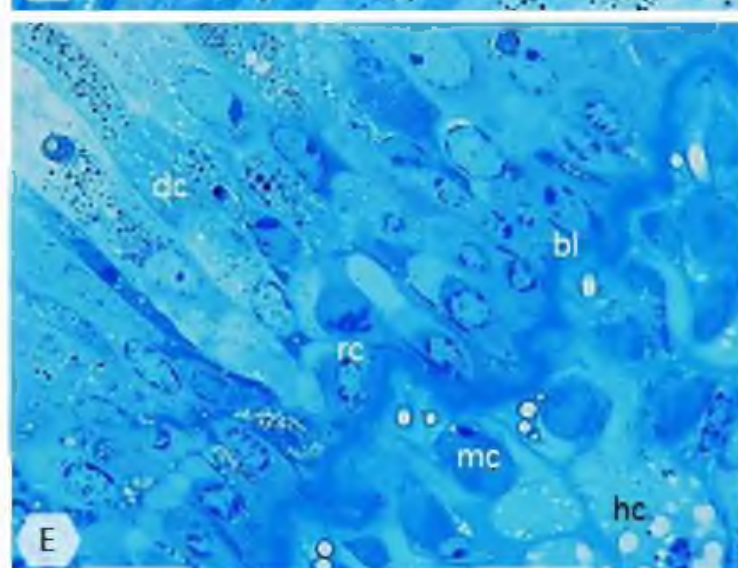
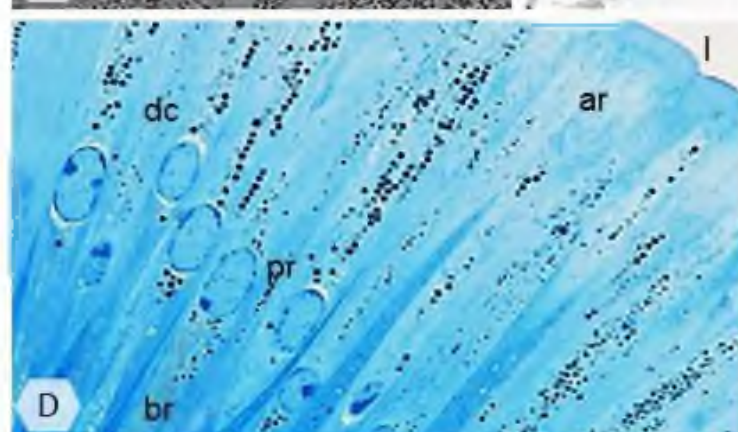
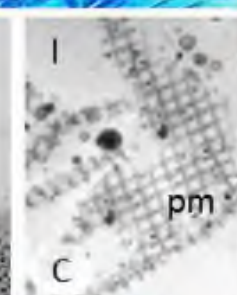
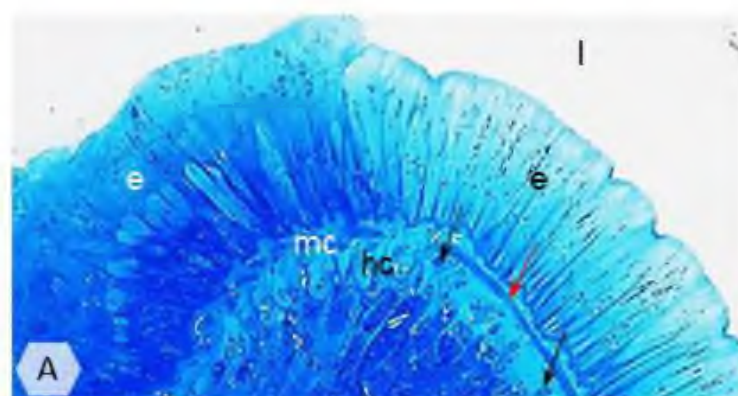
Fot. 2. Organizacja przewodu pokarmowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Ogólna morfologia układu pokarmowego *A. gigas*. Jelito przednie (**fg**), jelito środkowe (**mg**), jelito tylne (**hg**), odcinek pyloryczny (**p**). Mikroskopia stereoskopowa (SM), pow. x 0,7.
- B.** Miejsce połączenia jelita przedniego (**fg**) z jelitem środkowym (**mg**) wraz z niewielką zastawką kardialną (**cv**). Gruczoły ślinowe (**sg**). SM, pow. x 2,9.
- C.** Połączenie jelita środkowego (**mg**) z jelitem tylnym (**hg**) wraz z wyraźnie zaznaczonym odcinkiem pylorycznym (**p**). SM, pow. x 2,6.



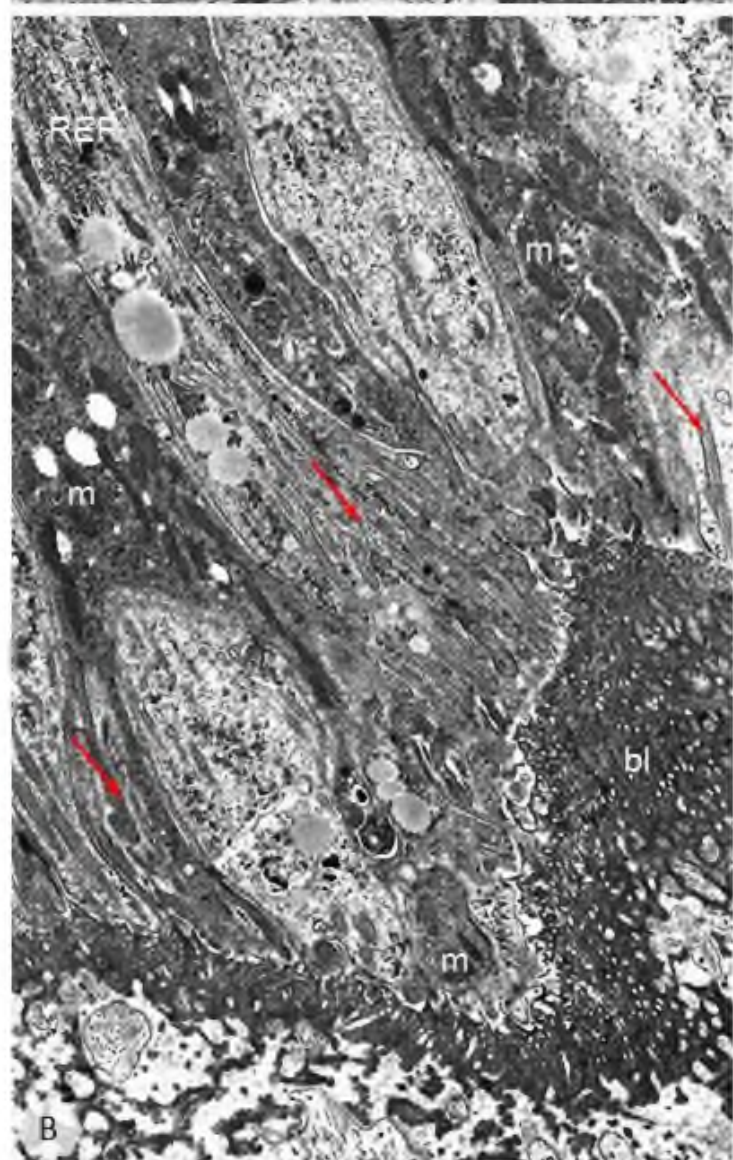
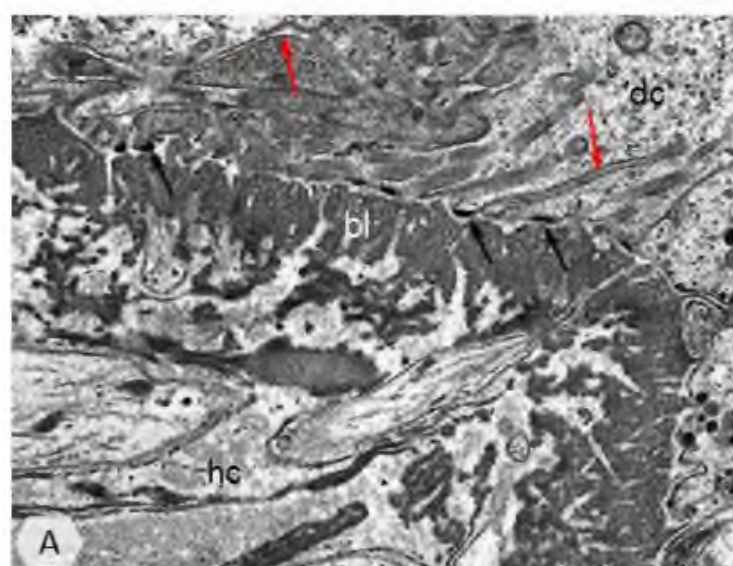
Fot. 3. Budowa nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Przekrój poprzeczny przez ścianę jelita środkowego *A. gigas*. Mięśnie wisceralne (**mc**) o przebiegu okrężnym (**czerwona** →) i podłużnym (**czarne** →), komórki wątrobowe (**hc**), nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**l**). Mikroskopia świetlna (LM), materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 230.
- B.** Błona perytroficzna (**pm**) pokrywająca nabłonek jelita środkowego (**e**). Światło jelita (**l**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 590.
- C.** Budowa strukturalna błony perytroficznej (**pm**). Światło jelita (**l**). Transmisyjna mikroskopia elektronowa (TEM), pow. x 23 400.
- D.** Cylindryczne komórki trawienne (**dc**) w nabłonku jednowarstwowym wielorzędowym sięgające światła jelita (**l**) z charakterystyczną regionalizacją cytoplazmy. Region apikalny (**ar**), region bazalny (**br**), region okołojądrowy (**pr**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 910.
- E.** Nabłonek jednowarstwowo wielorzędowy spoczywający na bezkomórkowej, pofałdowanej błonie podstawnej (**bl**). Mięśnie wisceralne (**mc**), komórki regeneracyjne (**rc**), komórki trawienne (**dc**), komórki wątrobowe (**hc**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 890.



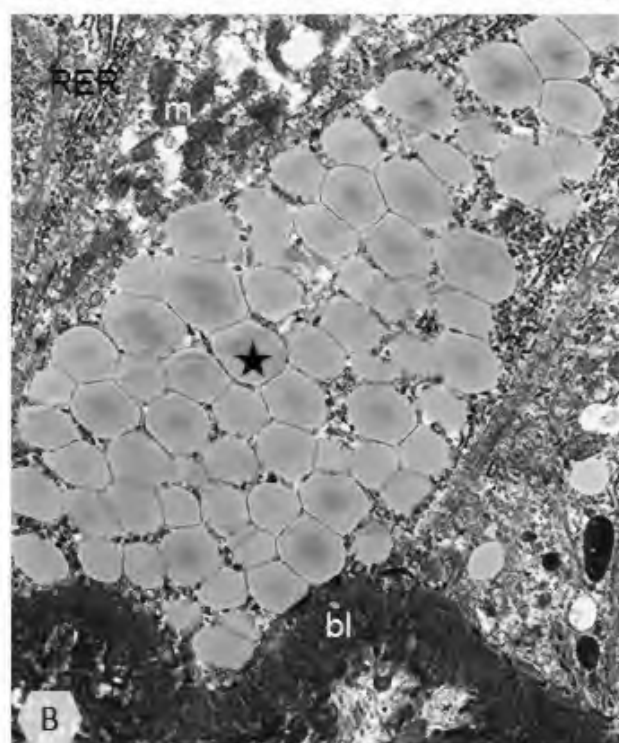
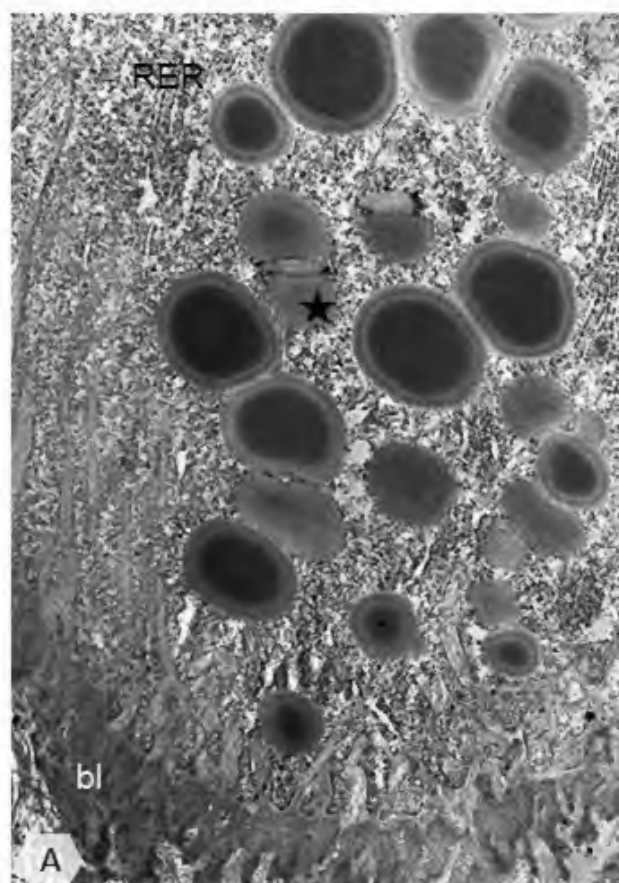
Fot. 4. Ultrastruktura regionu bazalnego cytoplazmy komórek trawiennych w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Hemidesmosomy (**czarne** →) przytwierdzające komórki trawienne (**dc**) do błony podstawnej (**bl**). Komórki wątrobowe (**hc**), wpuklenia błony bazalnej komórki trawiennej (**czerwone** →). TEM, pow. x 17 000.
- B.** Organelle komórkowe występujące w cytoplazmie bazalnej komórek trawiennych. Błona podstawna (**bl**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), mitochondria (**m**), wpuklenia błony bazalnej komórki trawiennej (**czerwone** →). TEM, pow. x 12 100.



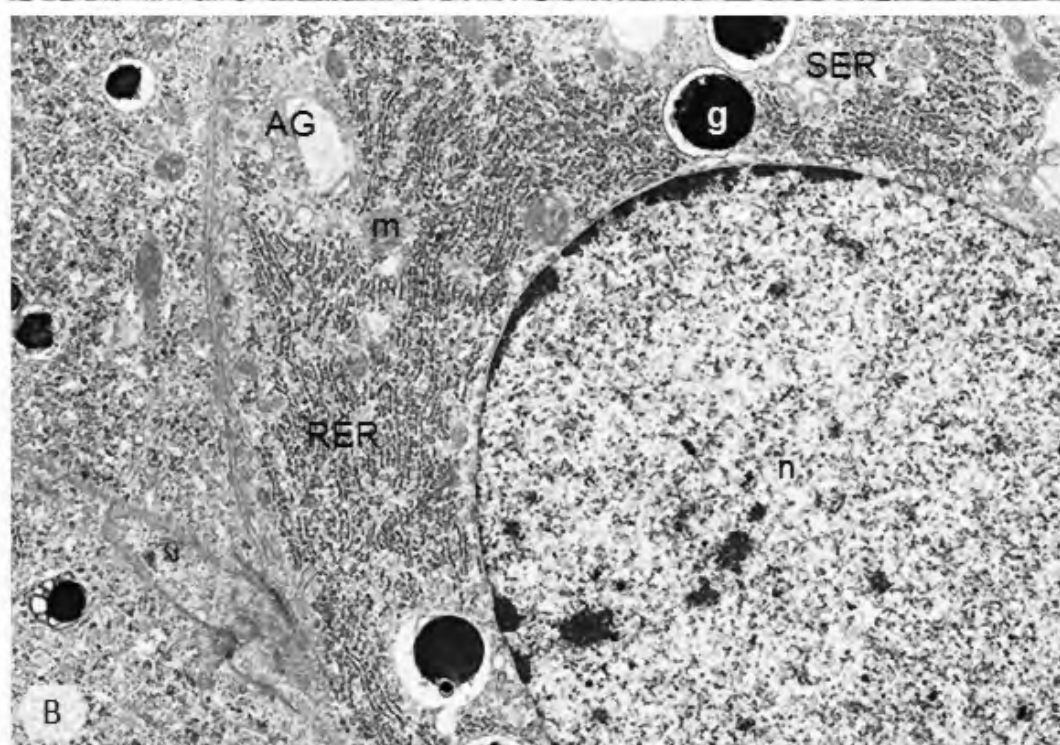
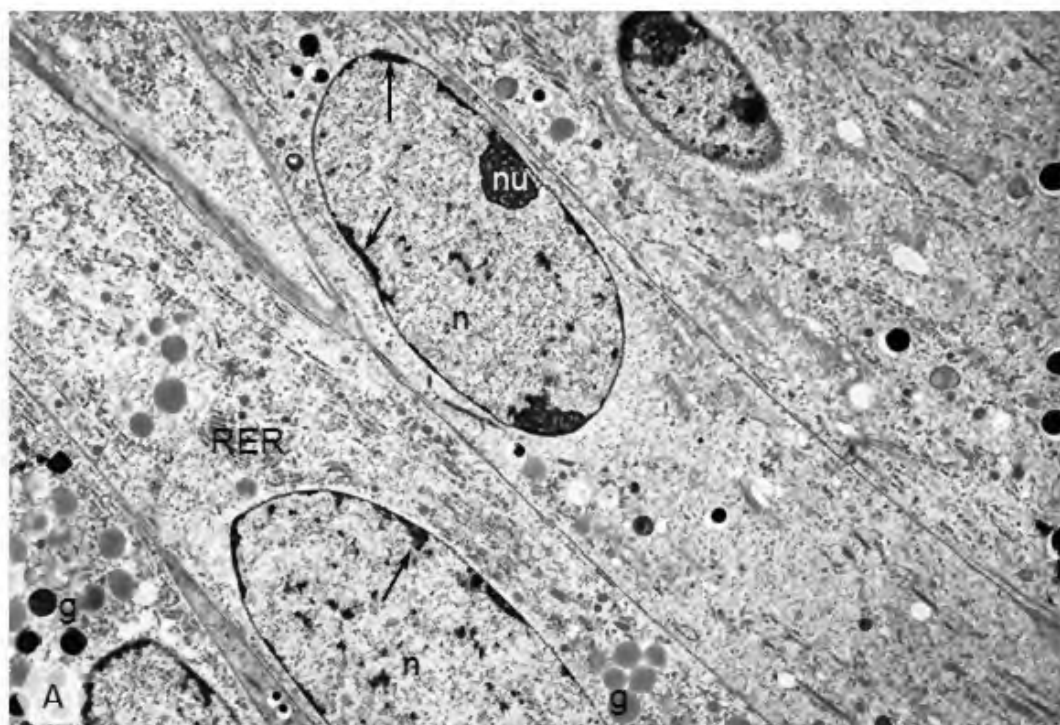
Fot. 5. Ultrastruktura regionu bazalnego cytoplazmy komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

A, B. Skupienia materiału zapasowego (★) umiejscowione w regionie bazalnym niektórych komórek trawiennych. Błona podstawna (**bl**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), mitochondria (**m**). TEM, **A** - pow. x 14 400; **B** - pow. x 15 600.



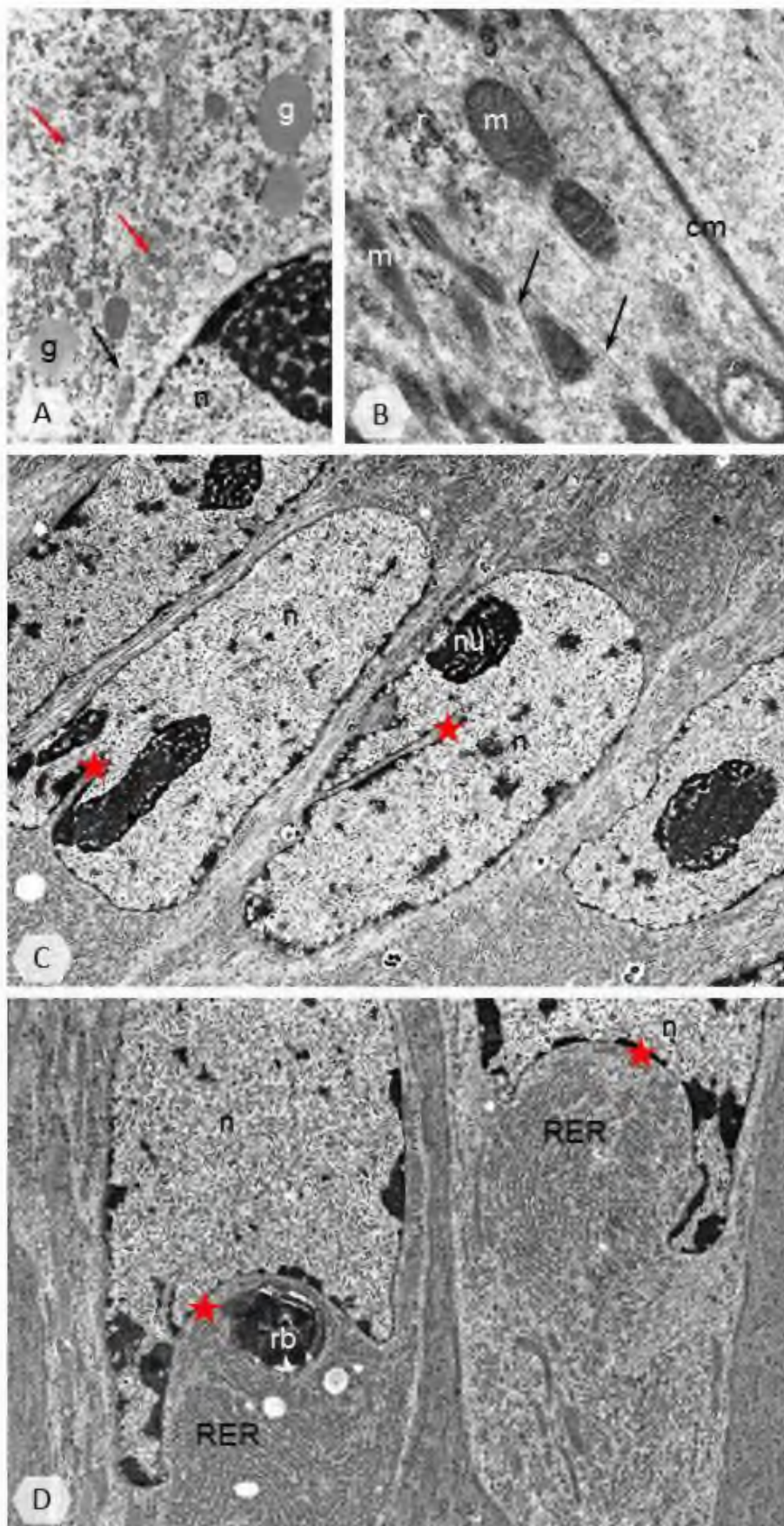
Fot. 6. Ultrastruktura regionu okołojądrowego cytoplazmy komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Jądra komórkowe (**n**) komórek trawiennych o wydłużonym, owalnym kształcie, posiadające niewielkie skupienia heterochromatyny (→) zlokalizowanej głównie przy otoczce jądrowej. Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), granule (**g**), jąderko (**nu**). TEM, pow. x 4 950.
- B.** Organelle komórkowe występujące w cytoplazmie regionu okołojądrowego. Aparat Golgiego (**AG**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), granule (**g**), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 14 300.



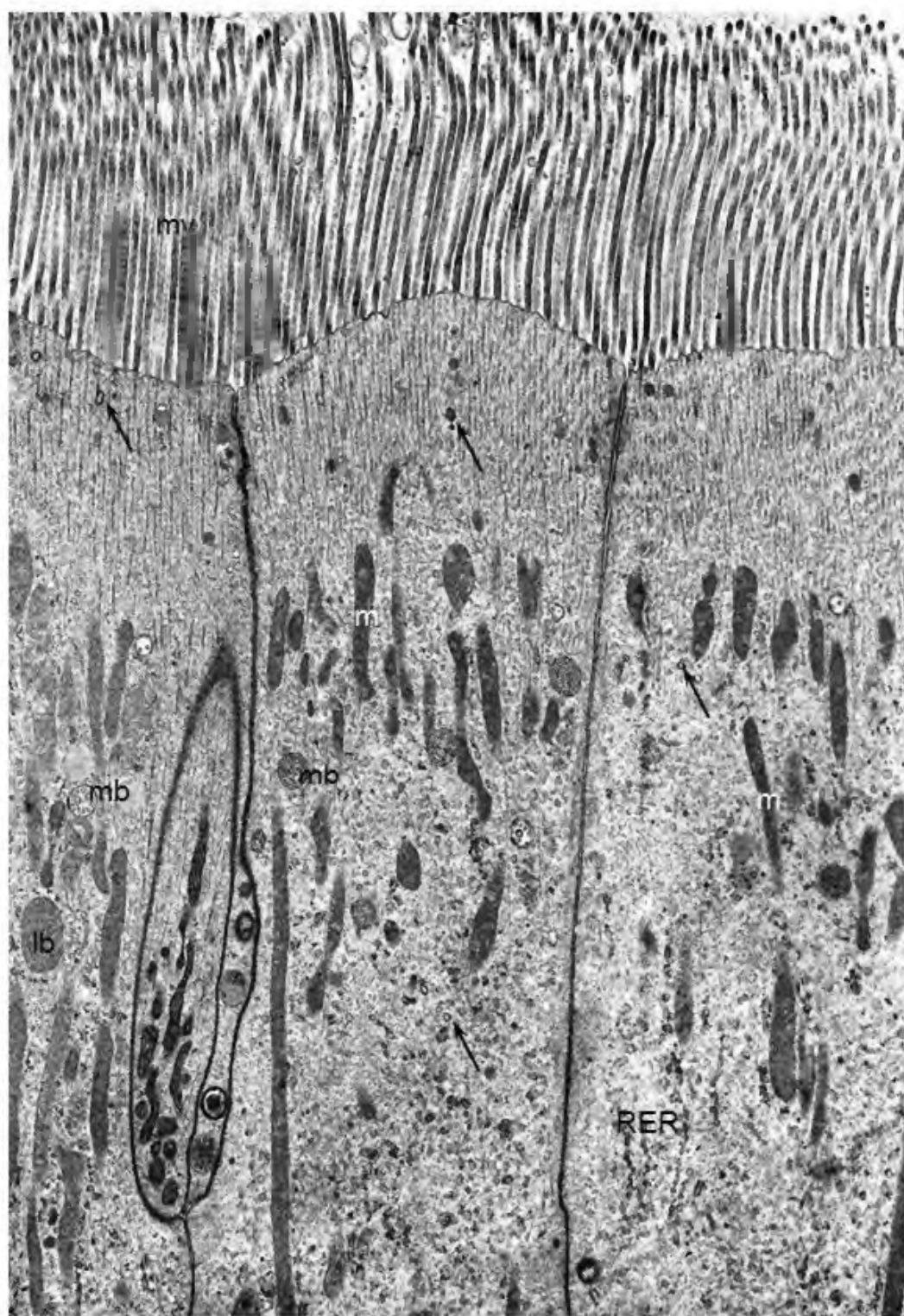
Fot. 7. Ultrastruktura regionu okołojądrowego cytoplazmy komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Występowanie licznych, drobnych pęcherzyków (**czerwone** →) i elementów cytoszkieletu komórkowego (**czarna** →) w pobliżu jądra komórkowego (**n**). Granule (**g**). TEM, pow. x 15 400.
- B.** Cytoplazma peryferycznych obszarów regionu okołojądrowego z wyraźnie widocznymi elementami cytoszkieletu (**czarne** →). Lateralna błona komórkowa (**cm**), mitochondria (**m**). Wolne rybosomy (**r**). TEM, pow. x 34 400.
- C.** Jądra komórkowe (**n**) z głębokimi wpukleniami (**czerwone** ★) w głąb nukleoplazmy wypełnionymi cytoplazmą. Jąderko (**nu**). TEM, pow. x 9 200.
- D.** Liczne cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**) występujące wraz z cytoplazmą wewnątrz wpukleń (**czerwona** ★) jąder komórkowych (**n**). Ciało resztkowe (**rb**). TEM, pow. x 9 400.



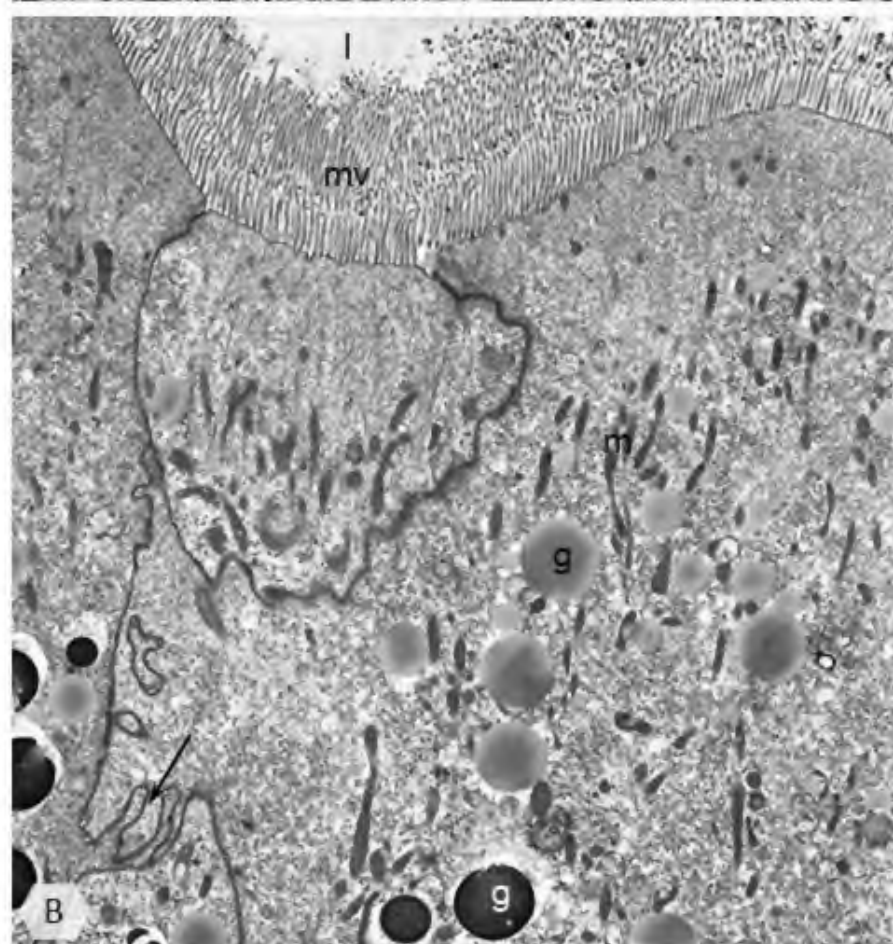
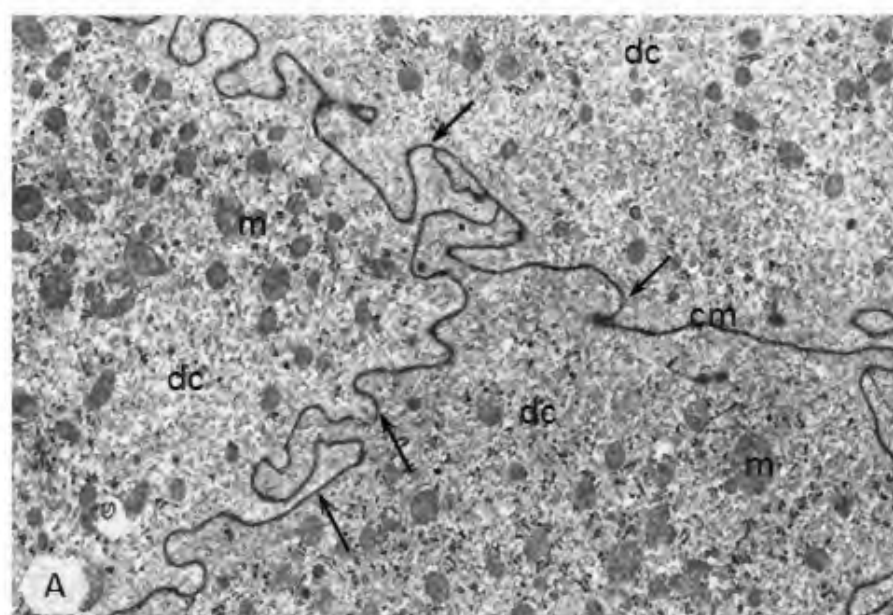
Fot. 8. Ultrastruktura regionu apikalnego cytoplazmy komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

Przekrój poprzeczny przez region apikalny, uwidaczniający liczne organelle komórkowe tej części komórki trawiennej: wydłużone mitochondria (**m**), ciała wielopęcherzykowe (**mb**), ciała lamellarne (**lb**), pęcherzyki o różnej gęstości elektronowej (\rightarrow). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), mikrokosmki (**mv**). TEM, pow. x 5 700.



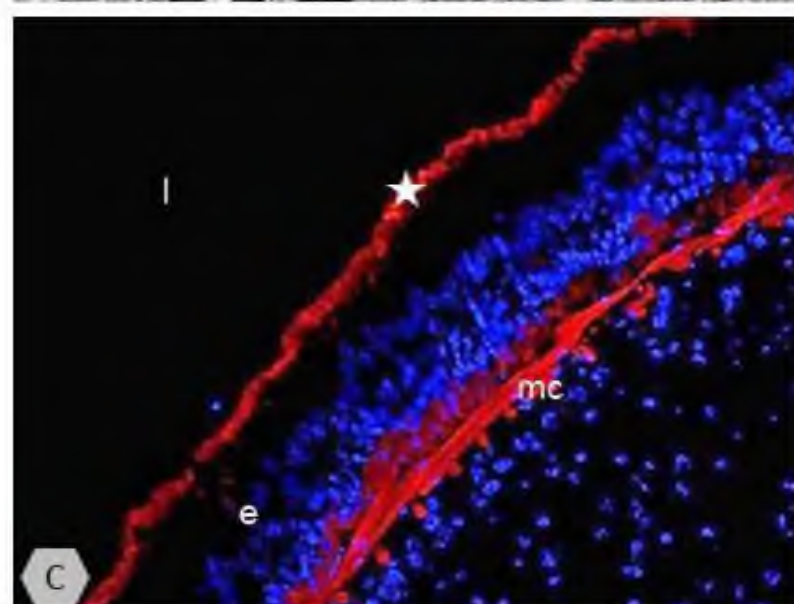
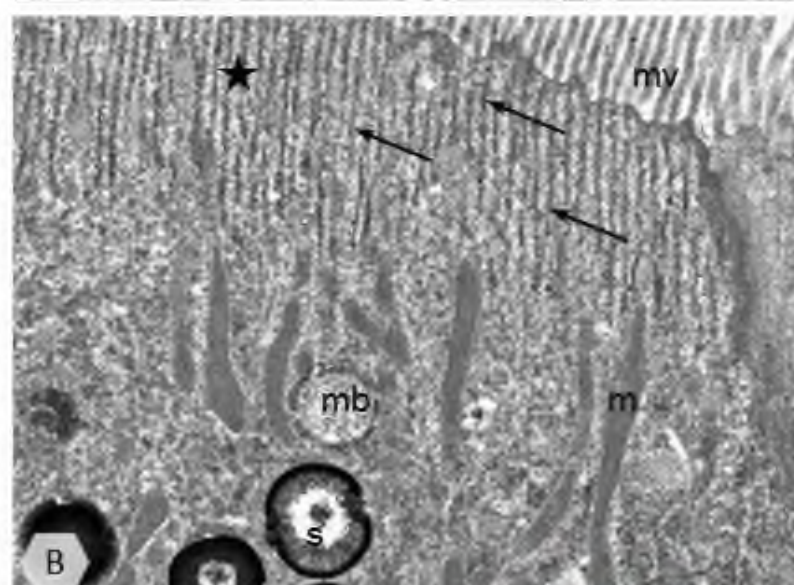
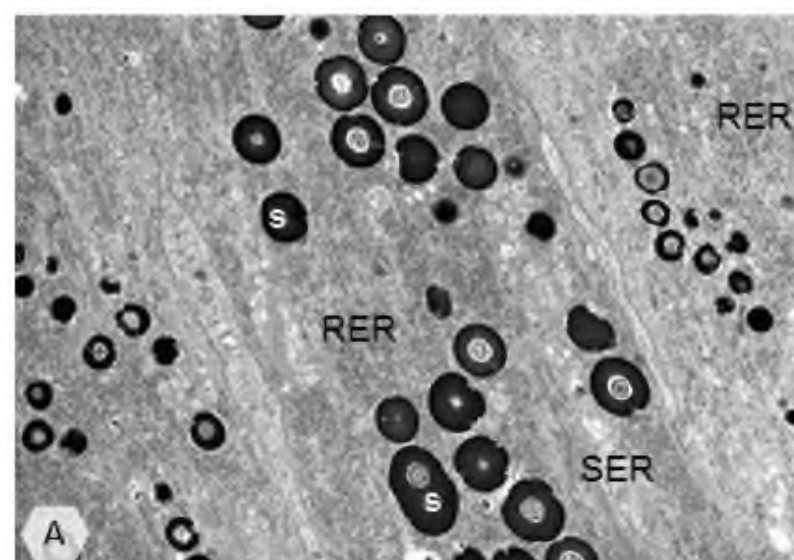
Fot. 9. Ultrastruktura regionu apikalnego komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Pofałdowania lateralnych błon (→) sąsiednich komórek trawiennych (**dc**) w dolnej części regionu apikalnego. Błona komórkowa (**cm**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 10 500.
- B.** Granule (**g**) o różnej gęstości elektronowej, zgromadzone na terenie cytoplazmy regionu apikalnego niektórych komórek trawiennych. Pofałdowania błony komórkowej (→). Mikroosmki (**mv**), mitochondria (**m**), światło jelita (**l**). TEM, pow. x 6 600.



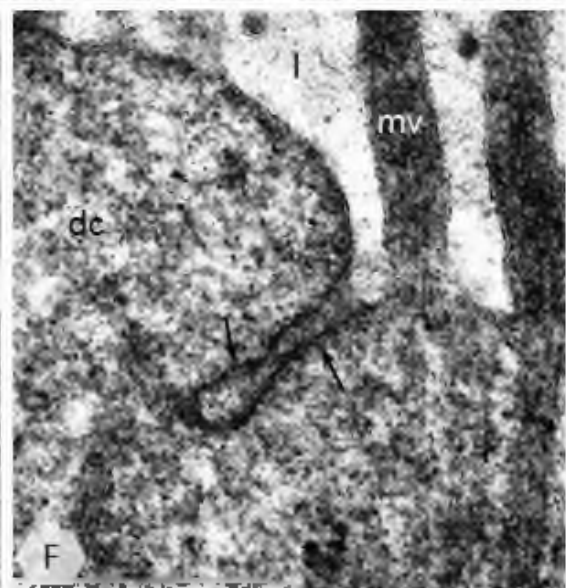
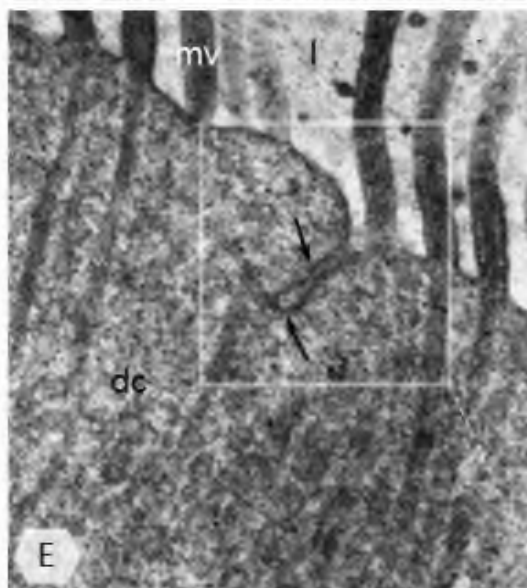
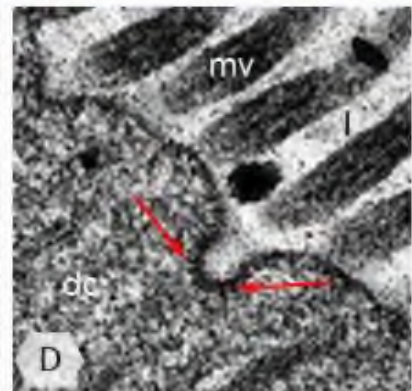
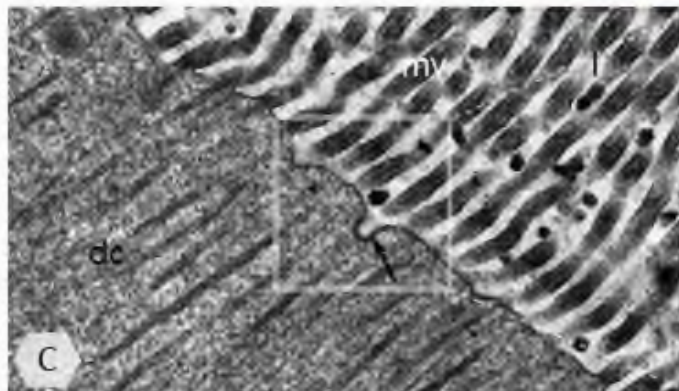
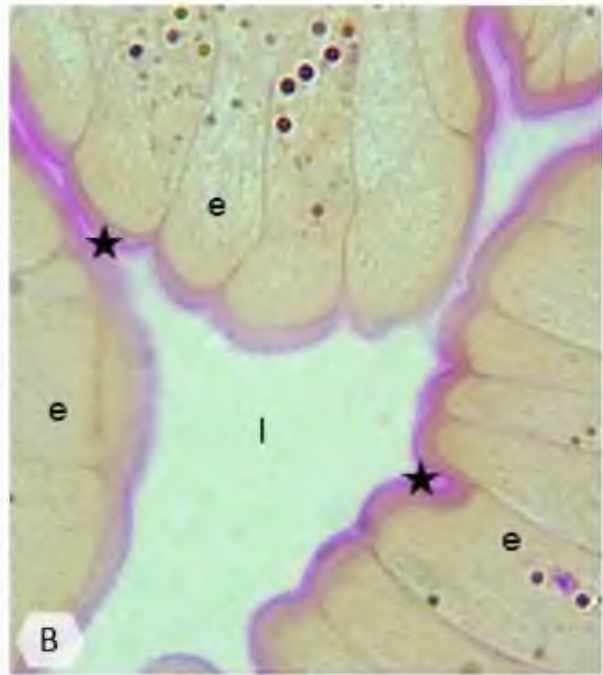
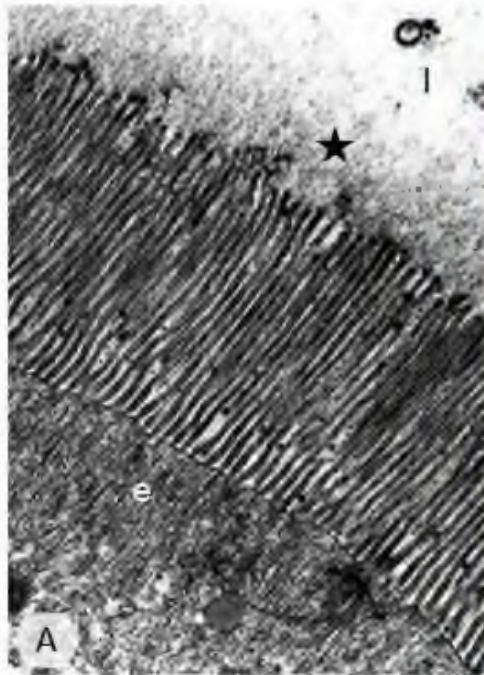
Fot. 10. Ultrastruktura regionu apikalnego cytoplazmy komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Sferyty (**s**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**). TEM, pow. x 9 800.
- B.** Podbłonowa warstwa korowa (**★**) w komórkach trawiennych, utworzona przez ubogi w organelle komórkowe pas cytoplazmy wraz z zanurzonymi w nim długimi korzeniami mikrokosmków (**→**). Ciało wielopęcherzykowe (**mb**), mikrokosmki (**mv**), mitochondria (**m**), sferyty (**s**). TEM, pow. x 22 300.
- C.** Lokalizacja cytoszkieletu aktynowego (**kolor czerwony**) w nabłonku jelita środkowego przy użyciu kompleksu rodamina-falloidyna. Jądra komórkowe (**kolor niebieski**) wybarwiono odczynnikiem DAPI. Mikrokosmki i warstwa korowa (**★**). Mięśnie wisceralne (**mc**), nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**I**). Mikroskopia fluorescencyjna (FM), pow. x 330.



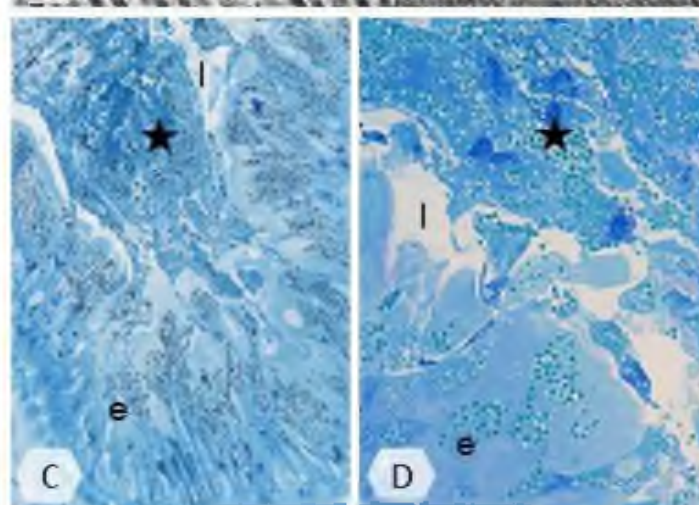
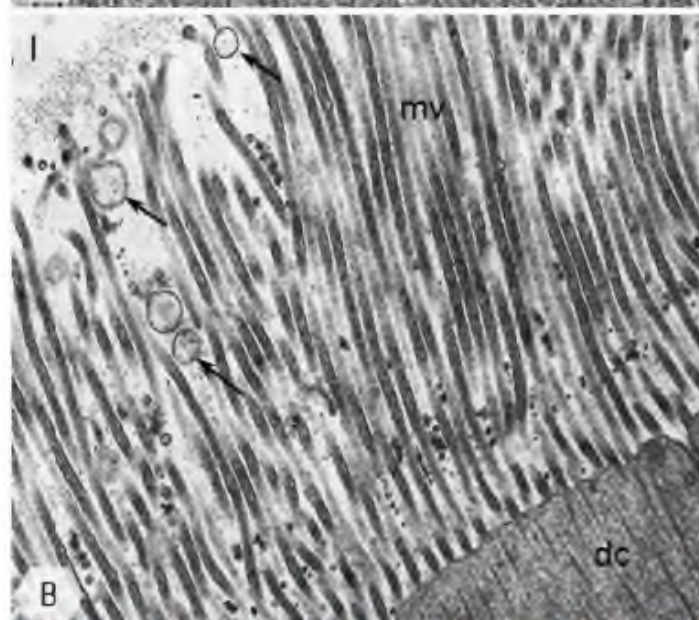
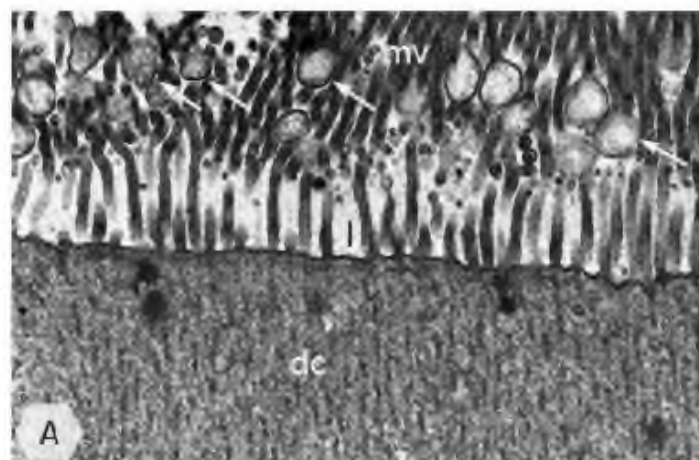
Fot. 11. Szczegóły budowy morfologicznej cytoplazmy regionu apikalnego komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A, B.** Substancja (★) pokrywająca nabłonek jelita środkowego (**e**) od strony światła (**l**), posiadająca średnią gęstość elektronową (**A**) i polisacharydowy charakter (**kolor malinowy**) (**B**). **A** – TEM, pow. x 15 700; **B** – LM, reakcja PAS, pow. x 1 300.
- C, D.** Inwaginacja błony apikalnej z wytworzeniem dolka (**czarna** →) opłaszczonego elektronowo gęstą substancją (**czerwone** →). Mikroosmki (**mv**), komórka trawienna (**dc**), światło jelita (**l**). TEM, **C** – pow. x 28 100; **D** – pow. x 75 700.
- E, F.** Inwaginacja błony apikalnej z wytworzeniem wydłużonego wpuklenia (**czarne** →). Mikroosmki (**mv**), komórka trawienna (**dc**), światło jelita (**l**). TEM, **E** – pow. x 51 100; **F** – pow. x 104 100.



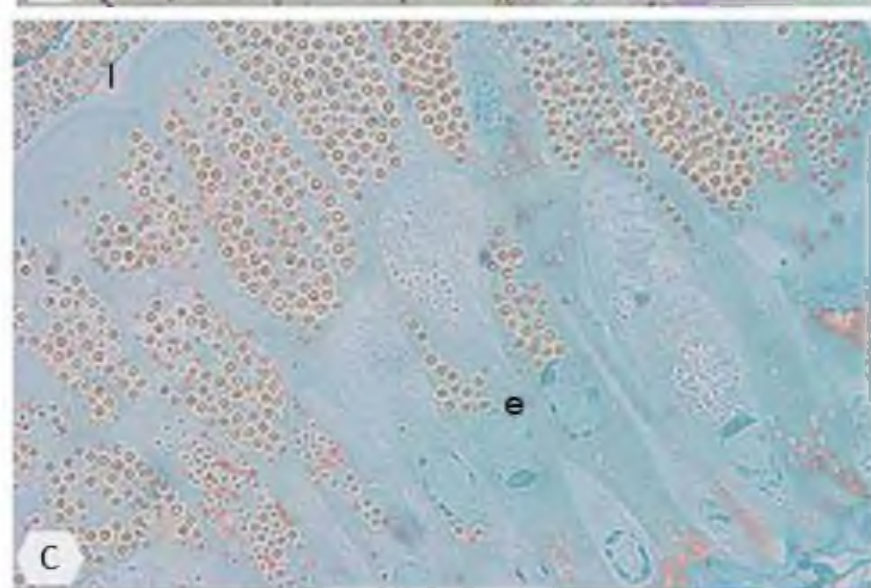
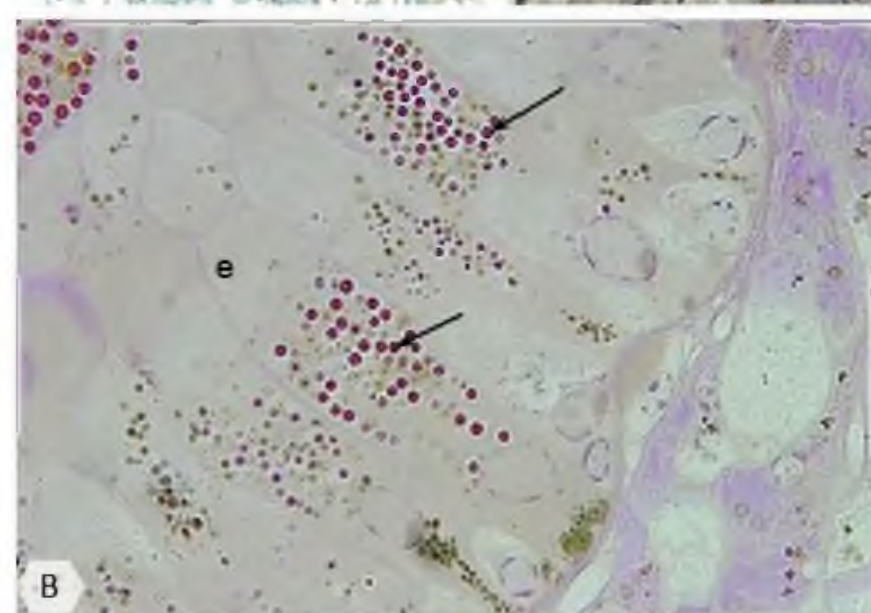
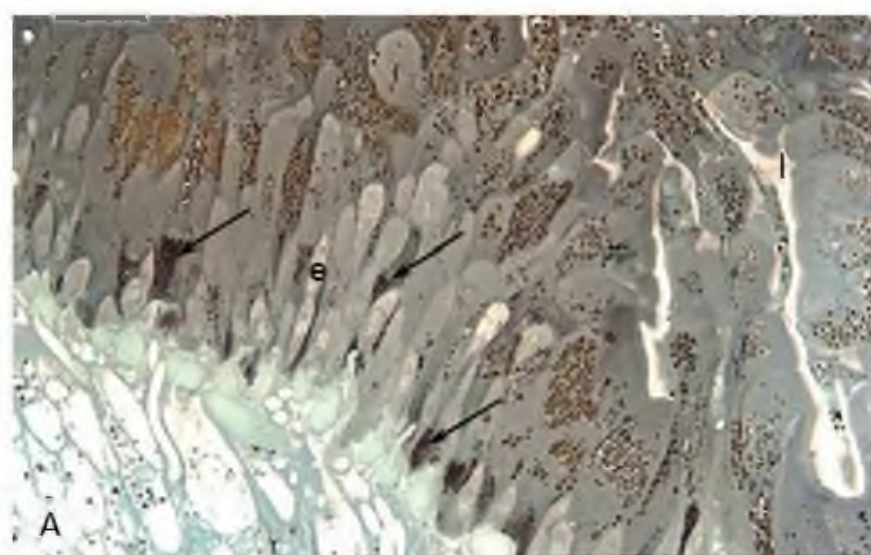
Fot. 12. Procesy wydzielania i usuwania substancji zachodzące w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A, B.** Wydzielanie mikroapokrynowe z widocznymi wewnątrz mikrokosmków (**mv**) pęcherzykami sekrecyjnymi (→). Komórka trawienna (**dc**), światło jelita (**I**). TEM, **A** – pow. x 21 500; **B** – pow. x 19 000.
- C, D.** Usuwanie z nabłonka jelita środkowego całych komórek trawiennych wraz z zgromadzonymi w ich cytoplazmie licznymi granulami (★). Nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**I**). LM, barwienie błękitem metylenowym; **C** – pow. x 200; **D** – pow. x 390.



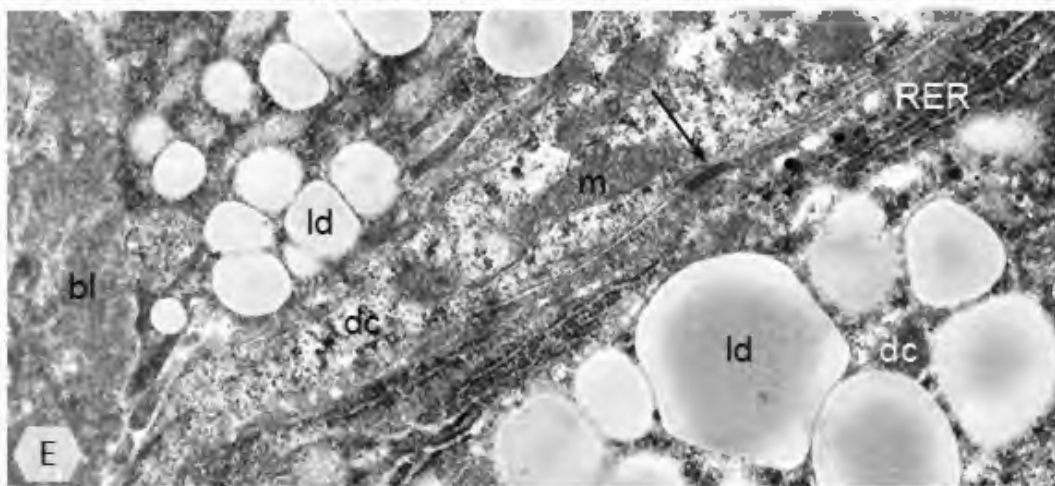
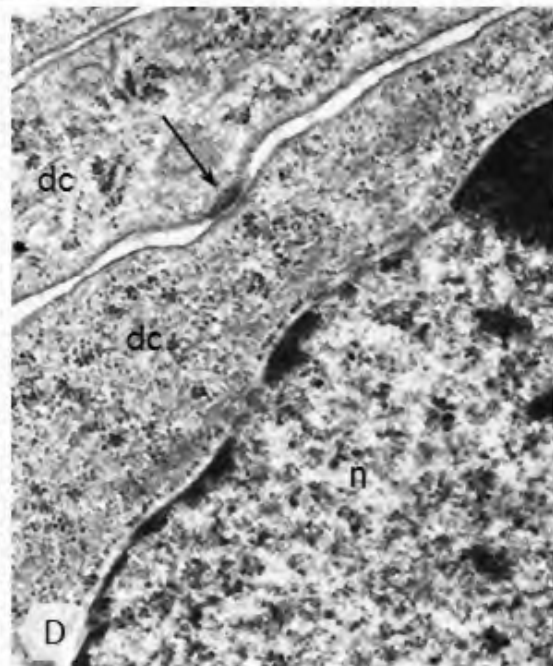
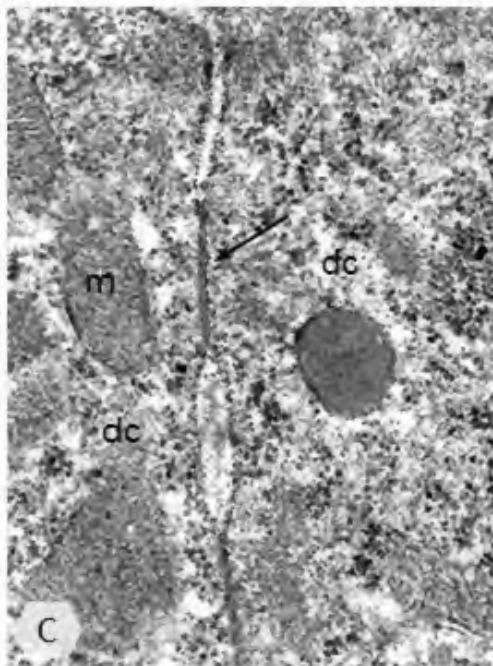
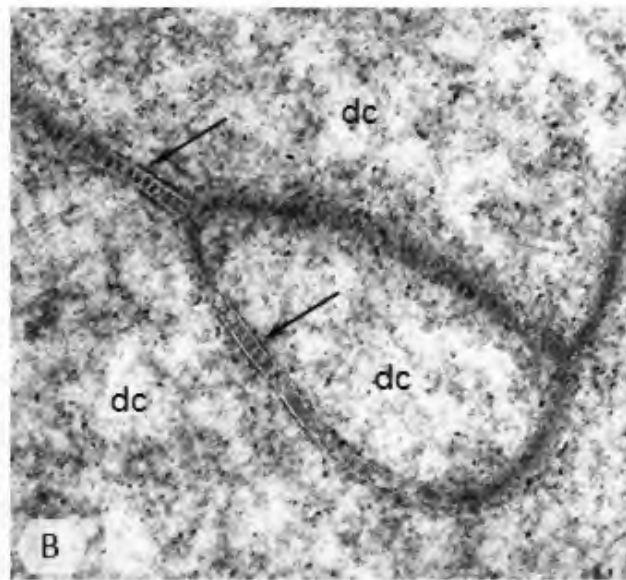
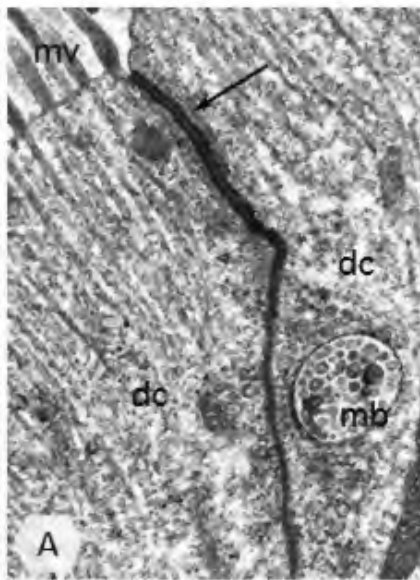
Fot. 13. Lokalizacja materiałów zapasowych na terenie komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Lokalizacja lipidów (→) w nabłonku jelita środkowego (**e**). Światło jelita (**I**). LM, barwienie Sudanem czarnym B, pow. x 490.
- B.** Lokalizacja polisacharydów (→) w nabłonku jelita środkowego (**e**). LM, reakcja PAS, pow. x 1 000.
- C.** Lokalizacja białek. Wynik reakcji świadczący o braku gromadzenia materiałów zapasowych o charakterze białkowym w komórkach trawiennych. Nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**I**). LM, barwienie błękitem rtęciowo-bromofenolowym, pow. x 1 100.



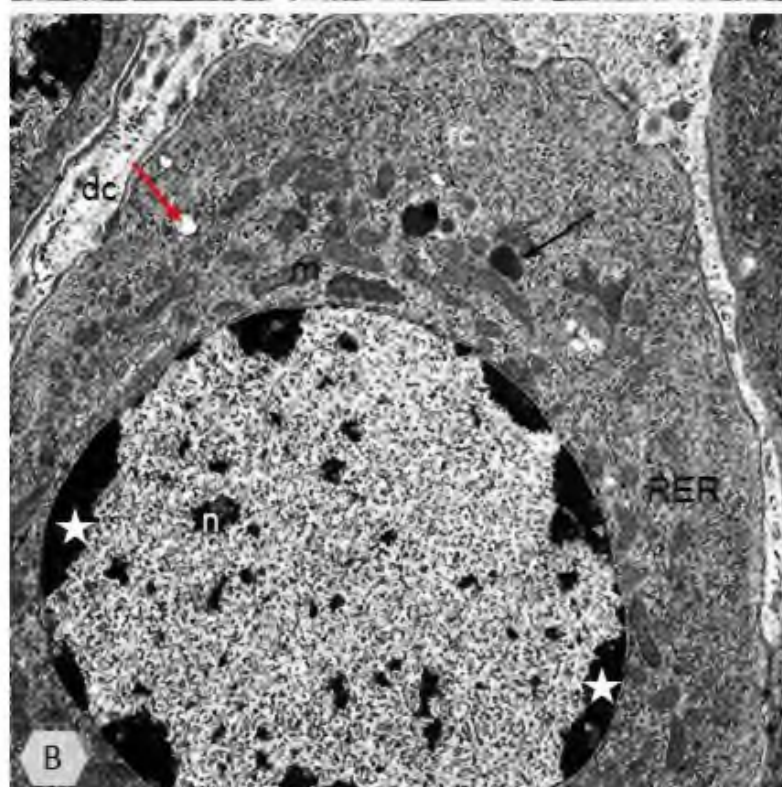
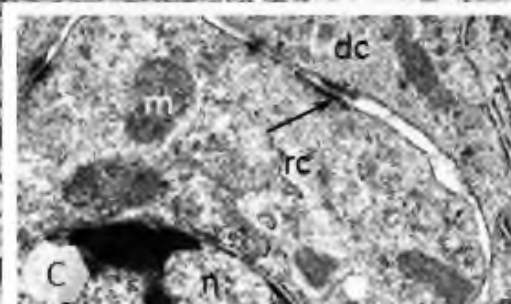
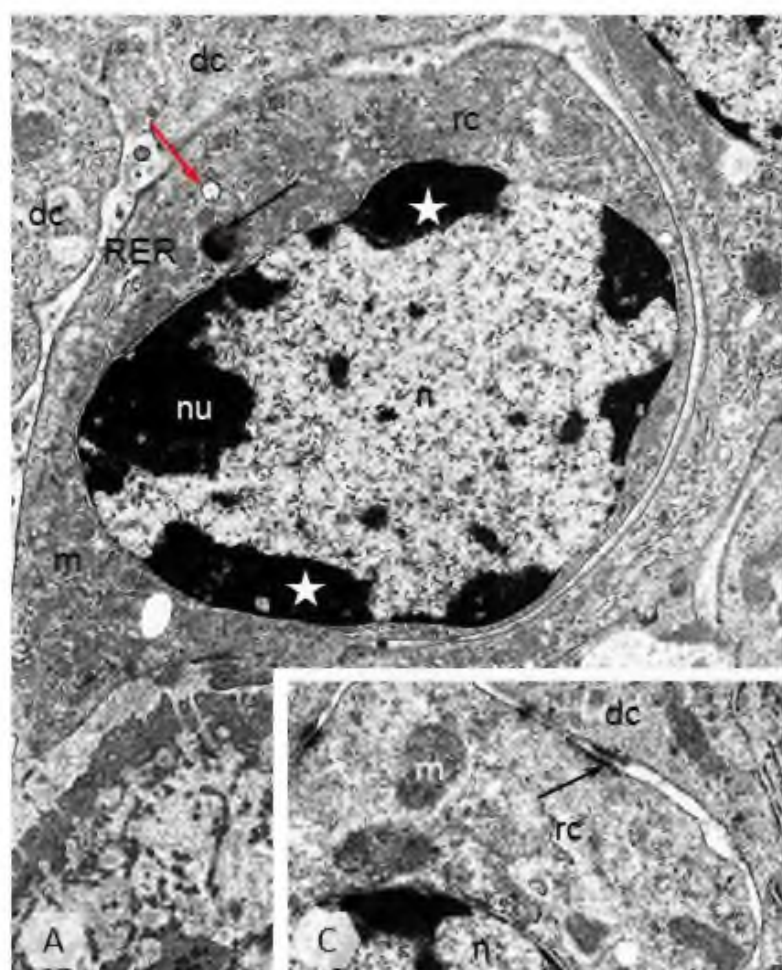
Fot. 14. Typy połączeń międzykomórkowych pomiędzy sąsiadującymi komórkami trawiennymi w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Gładkie połączenie przegrodowe (→) występujące w szczytowych częściach lateralnych błon komórkowych komórek trawiennych. Ciało wielopęcherzykowe (**mb**), komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**). TEM, pow. x 26 300.
- B.** Połączenia przegrodowe (→) występujące w dolnych częściach regionu apikalnego komórek trawiennych. Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 146 400.
- C.** Połączenia typu neksus (→) występujące w regionie okołojądrowym komórek trawiennych. Komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 51 100.
- D.** Desmosomy punktowe (→) występujące w regionie okołojądrowym komórek trawiennych. Jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 44 700.
- E.** Desmosomy punktowe (→) występujące w regionie bazalnym komórek trawiennych. Błona podstawna (**bl**), komórka trawienna (**dc**), krople lipidowe (**ld**), mitochondria (**m**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**). TEM, pow. x 15 400.

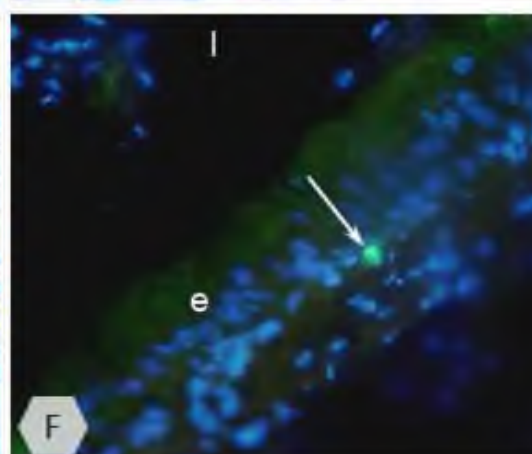
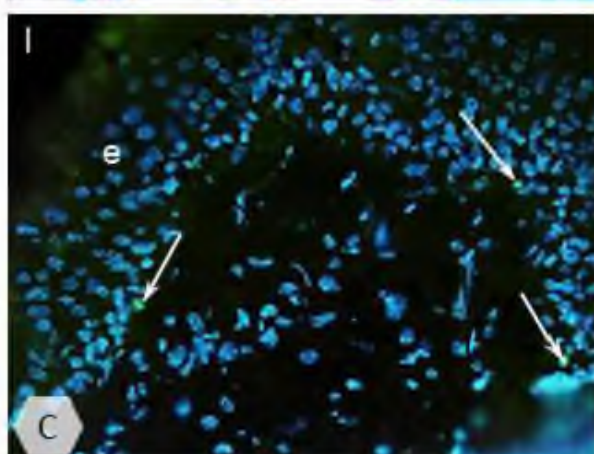
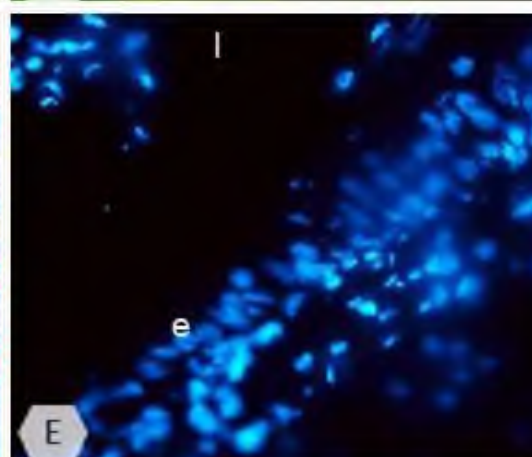
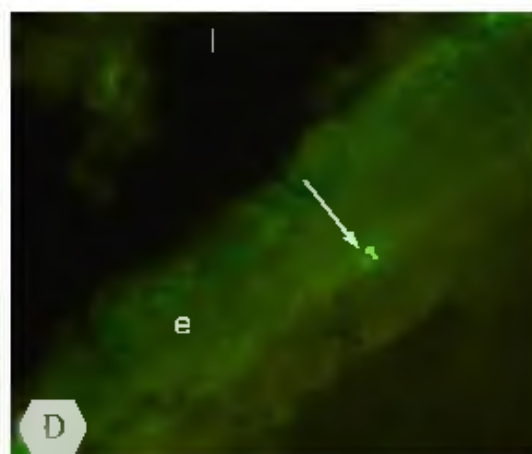
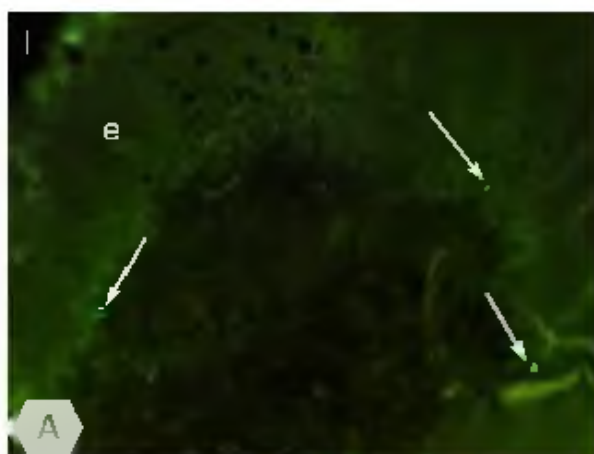


Fot. 15. Ultrastruktura komórek regeneracyjnych w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

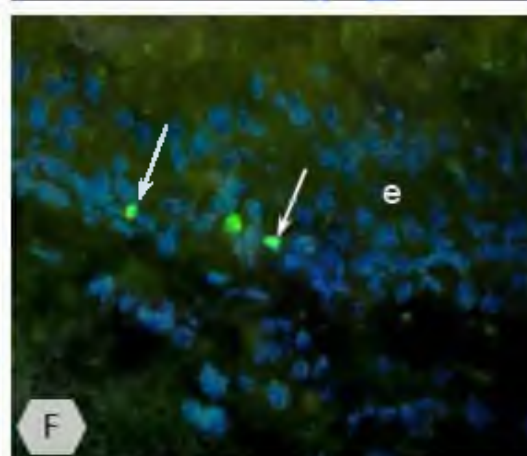
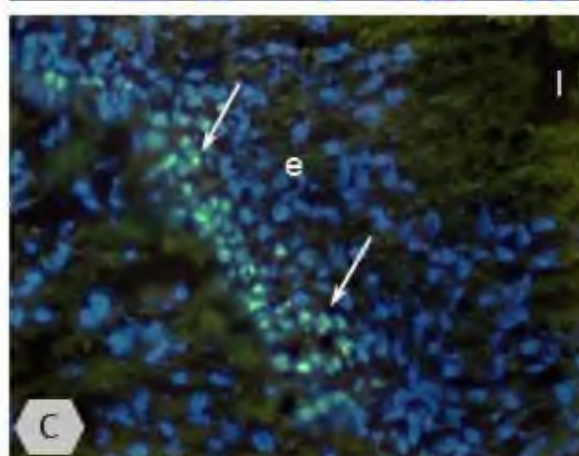
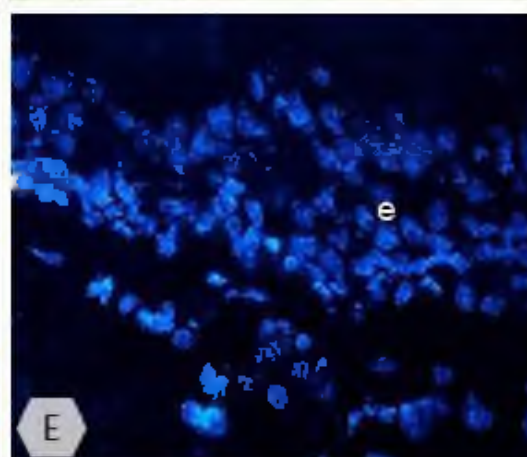
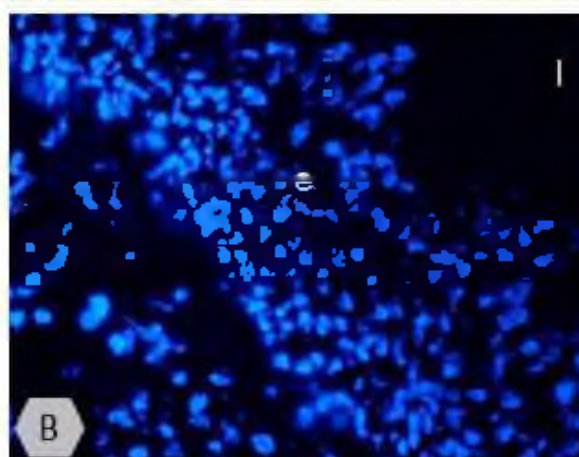
- A, B.** Komórka regeneracyjna (**rc**) z ubogą w organelle komórkowe cytoplazmą umiejscowiona pomiędzy bazalnymi częściami komórek trawiennych (**dc**). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), heretochromatyna (**★**), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (**czerwona** →), struktury elektronowo gęste (**czarna** →). TEM, **A** – pow. x 15 000; **B** – pow. x 11 600.
- C.** Desmosomy punktowe (→) łączące komórkę regeneracyjną (**rc**) z sąsiednimi komórkami trawiennymi (**dc**). Mitochondria (**m**), jądro komórkowe (**n**). TEM, pow. x 22 800.



Fot. 16A-F. Detekcja komórek regeneracyjnych (→) w nabłonku jelita środkowego (**e**) *Archispirostreptus gigas* z wykorzystaniem przeciwciał skierowanych przeciwko ufosforylowanej postaci histonu H3 (**kolor zielony**). Jądra komórkowe (**kolor niebieski**) wybarwione odczynnikiem DAPI. Światło jelita (**I**). FM, **A-C** – pow. x 250; **D-F** – pow. x 380.



Fot. 17A-F. Detekcja proliferujących komórek regeneracyjnych (→) w nabłonku jelita środkowego (**e**) *Archispirostreptus gigas* z użyciem bromodeoksyurydyny (**kolor zielony**). Jądra komórkowe (**kolor niebieski**) wybarwione odczynnikiem DAPI. Światło jelita (**l**). FM, **A-C** – pow. x 270; **D-F** – pow. x 400.

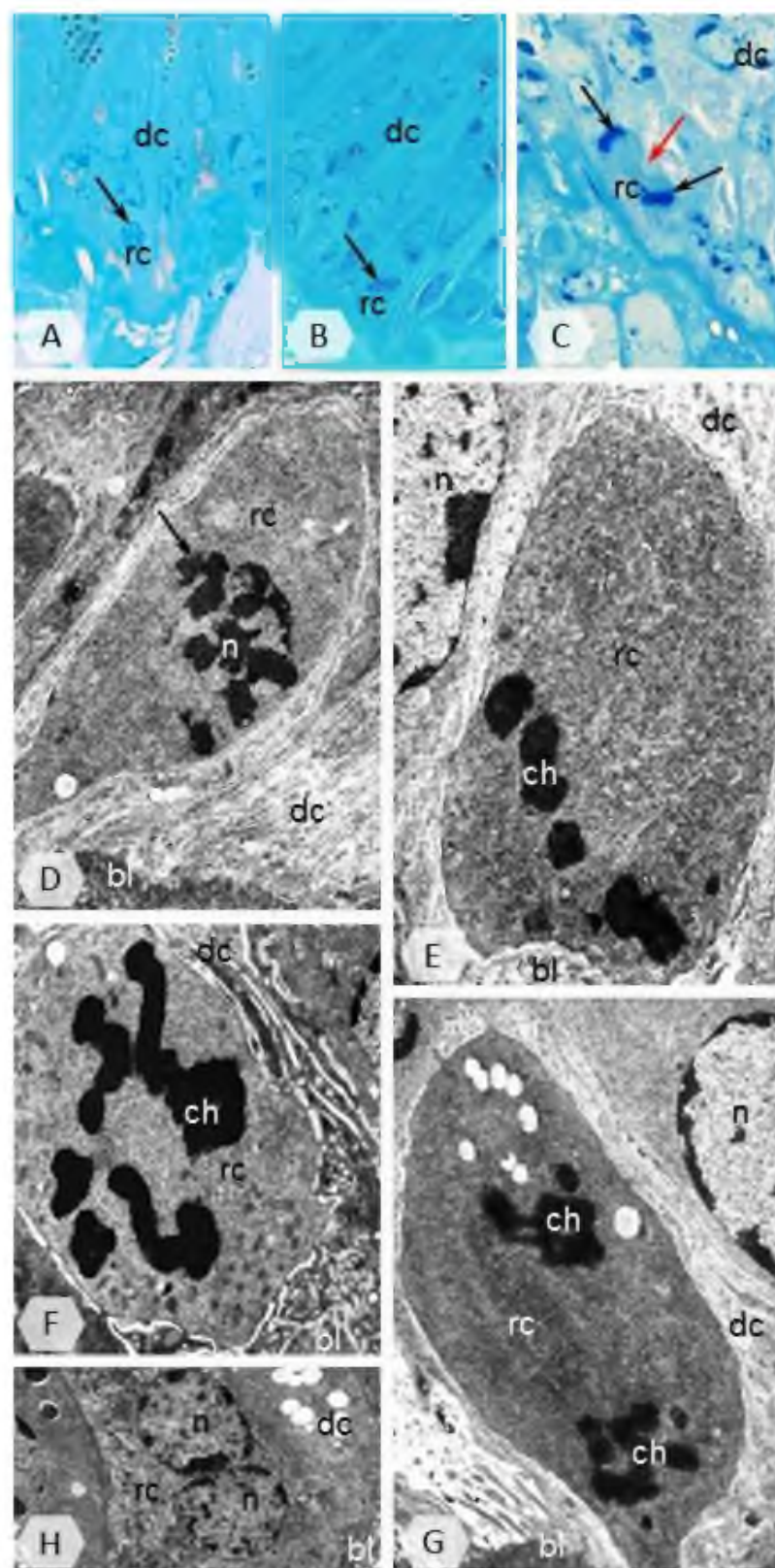


Fot. 18. Podziały mitotyczne komórek regeneracyjnych w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

A-C. Etapy mitozy komórki regeneracyjnej (**rc**) zobrazowane w mikroskopie świetlnym. Komórki trawienne (**dc**), proces cytokinezy (**czerwona** →), skondensowana chromatyna jądrowa (**czarna** →). LM, barwienie błękitem metylenowym; **A** – pow. x 530; **B** – pow. x 510; **C** – pow. x 690.

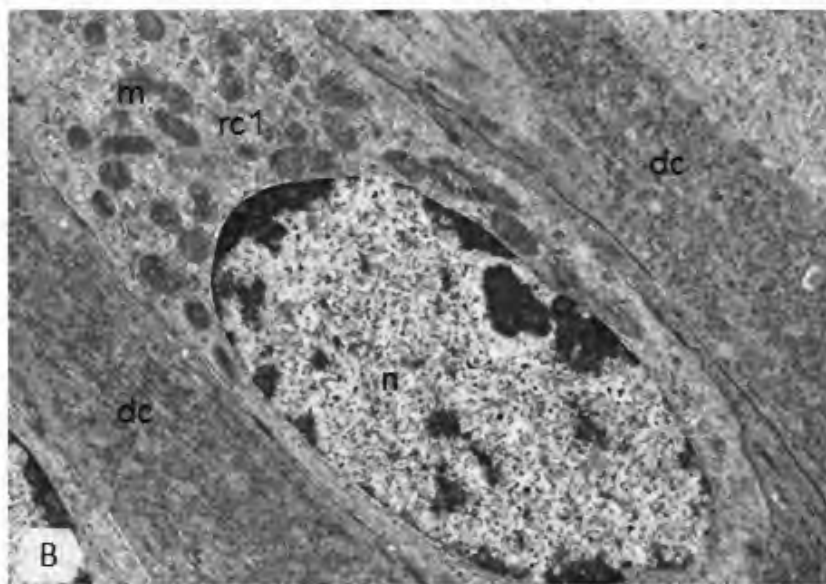
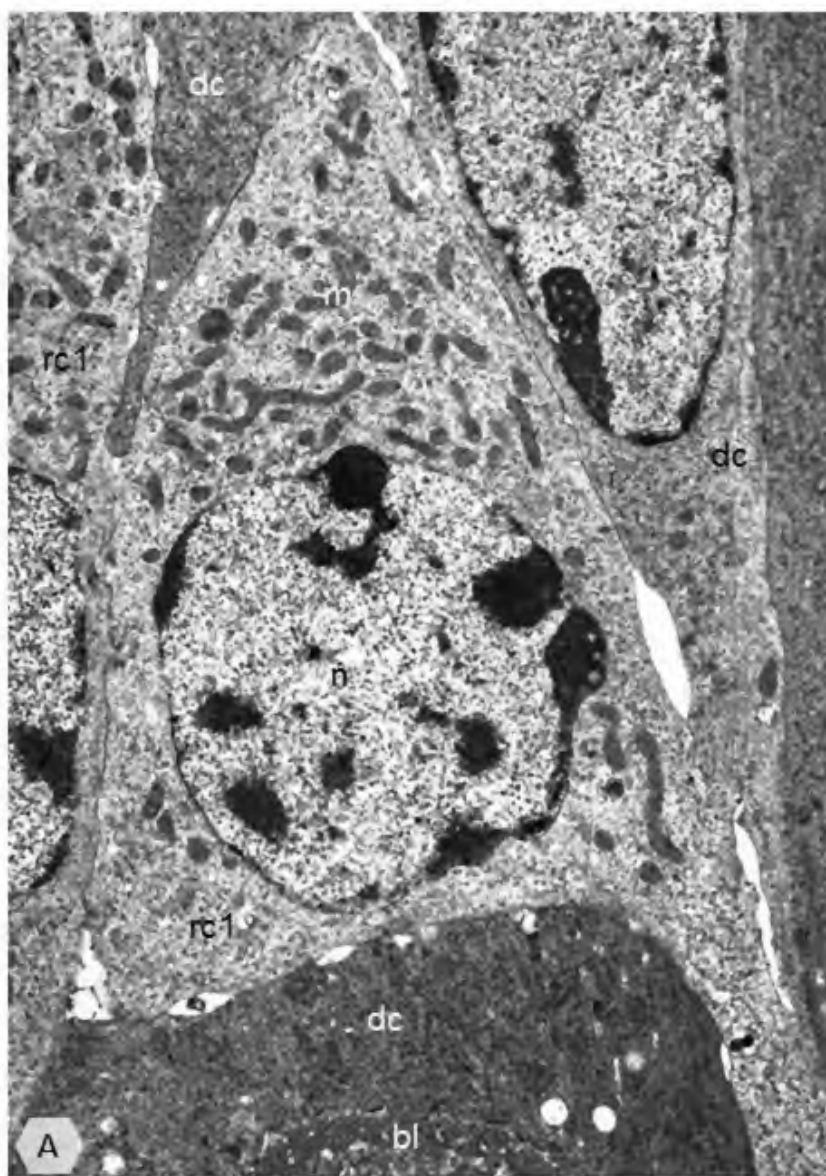
D-G. Etapy mitozy komórki regeneracyjnej (**rc**) zobrazowane w mikroskopie elektronowym. Błona podstawna (**bl**), chromosomy (**ch**), jądro komórkowe (**n**), komórki trawienne (**dc**), skondensowana chromatyna jądrowa (→). TEM, **D** – pow. x 5 050; **E** – pow. x 8 700; **F** – pow. x 7 200; **G** – pow. x 7 020.

H. Komórka regeneracyjna (**rc**) z dwoma jądrami komórkowymi (**n**) powstała wskutek oddzielenia w czasie kariokinezy i cytokinezy. Błona podstawna (**bl**), komórki trawienne (**dc**). TEM, pow. x 3 100.



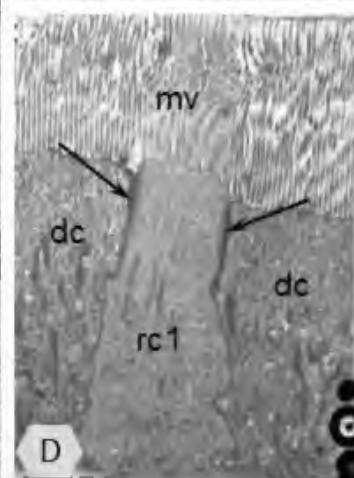
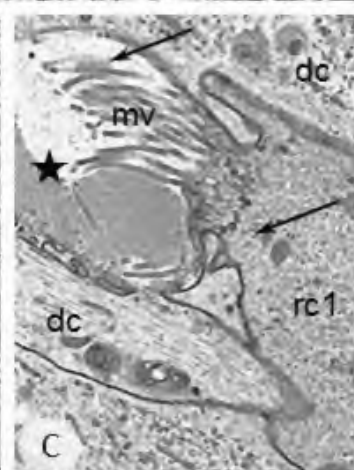
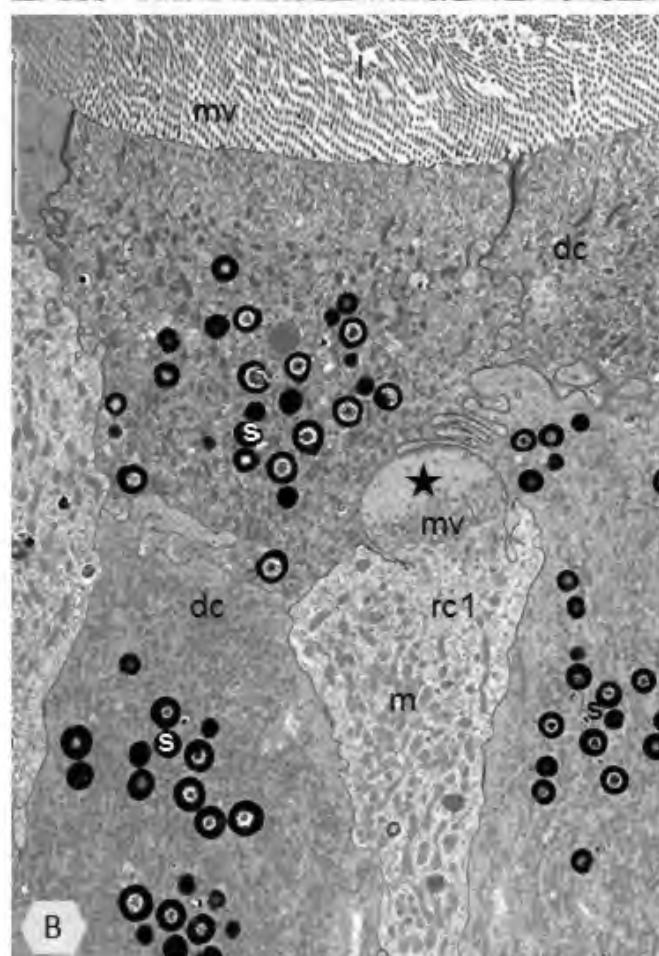
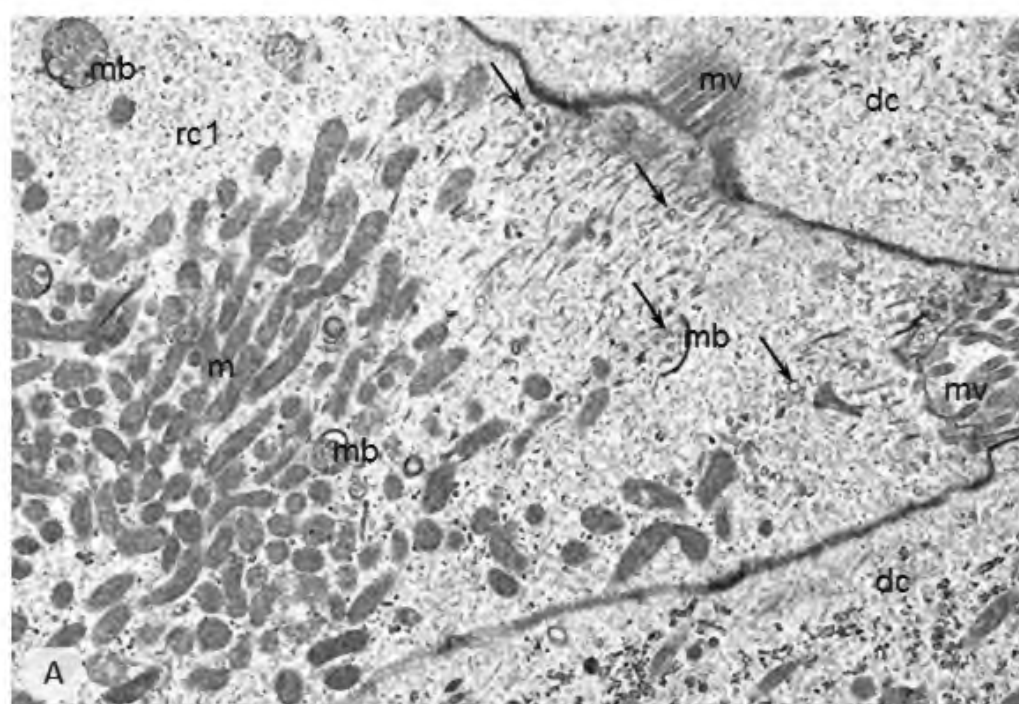
Fot. 19. Ultrastruktura komórek wchodzących na drogę różnicowania się w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Komórka różnicująca się (**rc1**) o stożkowatym kształcie ze skupieniem mitochondriów (**m**) nad jądrem komórkowym (**n**) na wczesnym etapie różnicowania się. Błona podstawna (**bl**), komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 14 900.
- B.** Komórka różnicująca się (**rc1**) przyjmująca stopniowo wydłużony kształt, z owalnym jądrem komórkowym (**n**) i nagromadzeniem mitochondriów (**m**) w swej szczytowej części. Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 13 900.



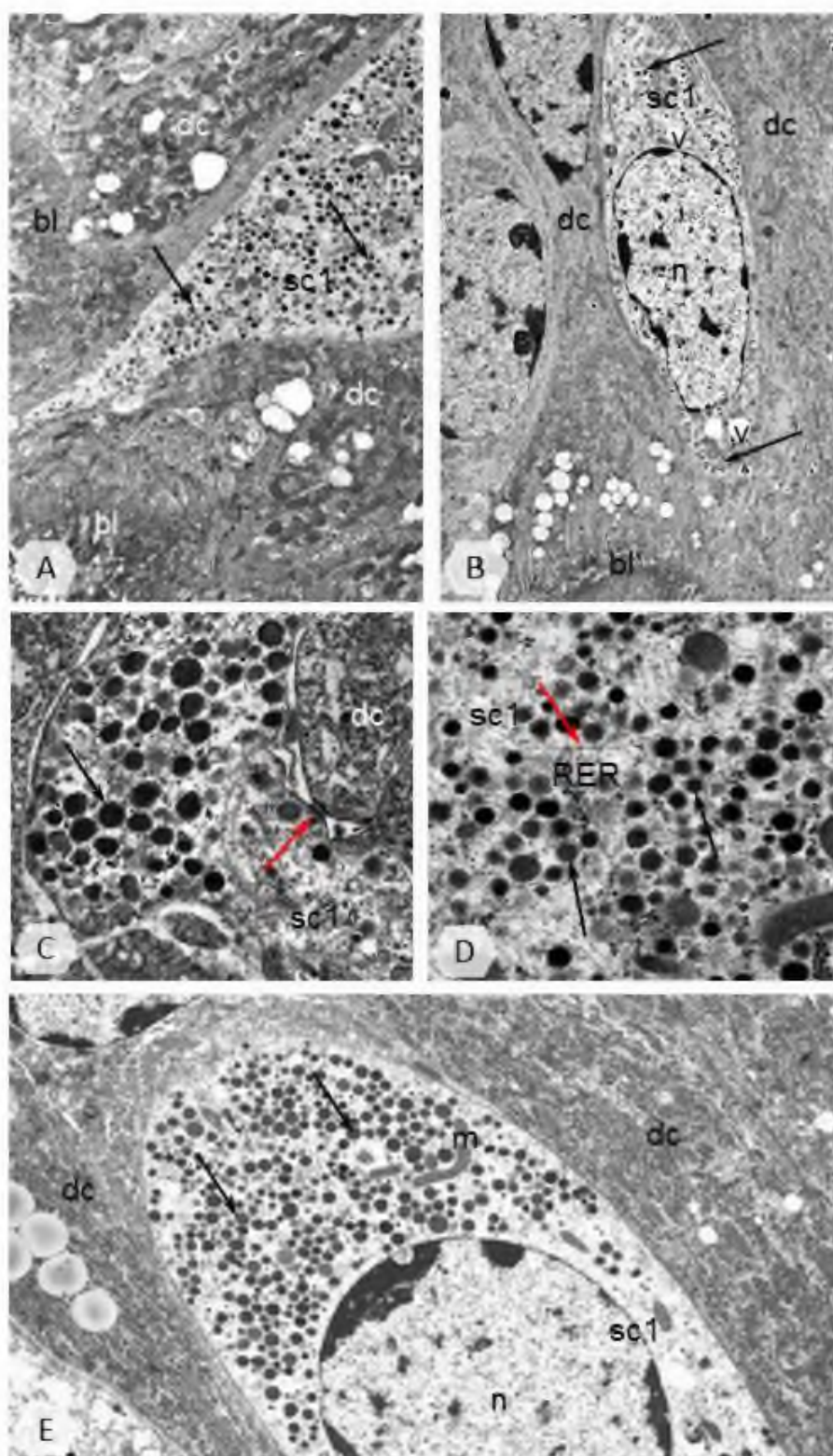
Fot. 20. Przebieg procesu różnicowania się komórki trawiennej w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Różnicująca się komórka (**rc1**) z licznymi ciałami wielopęcherzykowymi (**mb**) rozpadającymi się na drobne pęcherzyki (\rightarrow). Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 15 800.
- B.** Komórka różnicująca się (**rc1**) wzrastająca w stronę światła jelita (**I**). Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**), mitochondria (**m**), przestrzeń zewnątrzkomórkowa (**★**), sferyty (**s**). TEM, pow. x 8 100.
- C.** Przestrzeń zewnątrzkomórkowa (**★**) pomiędzy różnicującą się komórką (**rc1**) a sąsiednimi komórkami trawiennymi (**dc**), do której wnętrza uwypuklają się mikrokosmki (**mv**). Pęcherzyki (\rightarrow). TEM, pow. x 11 800.
- D.** Kontakt różnicującej się komórki (**rc1**) ze światłem jelita. Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**), połączenia międzykomórkowe (\rightarrow). TEM, pow. x 8 750.



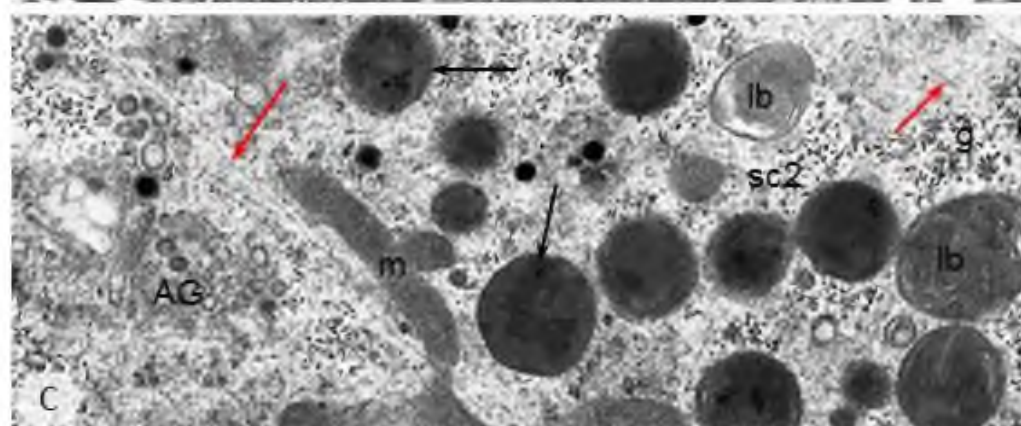
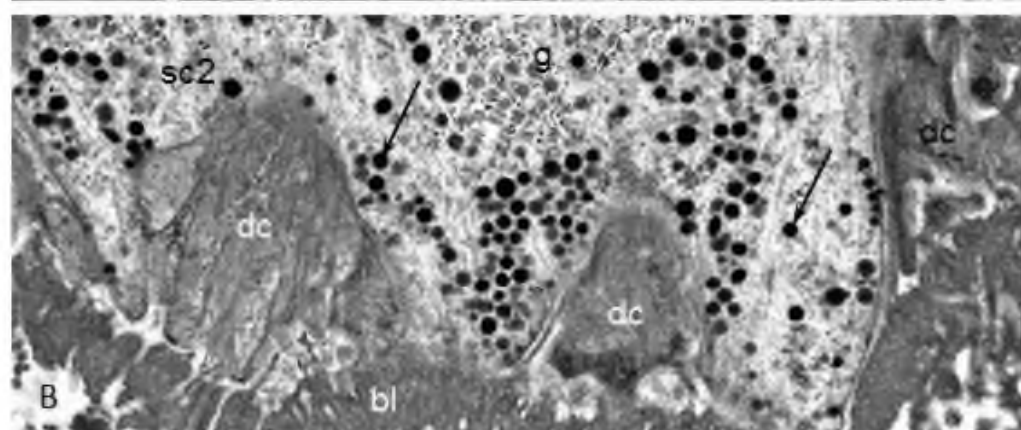
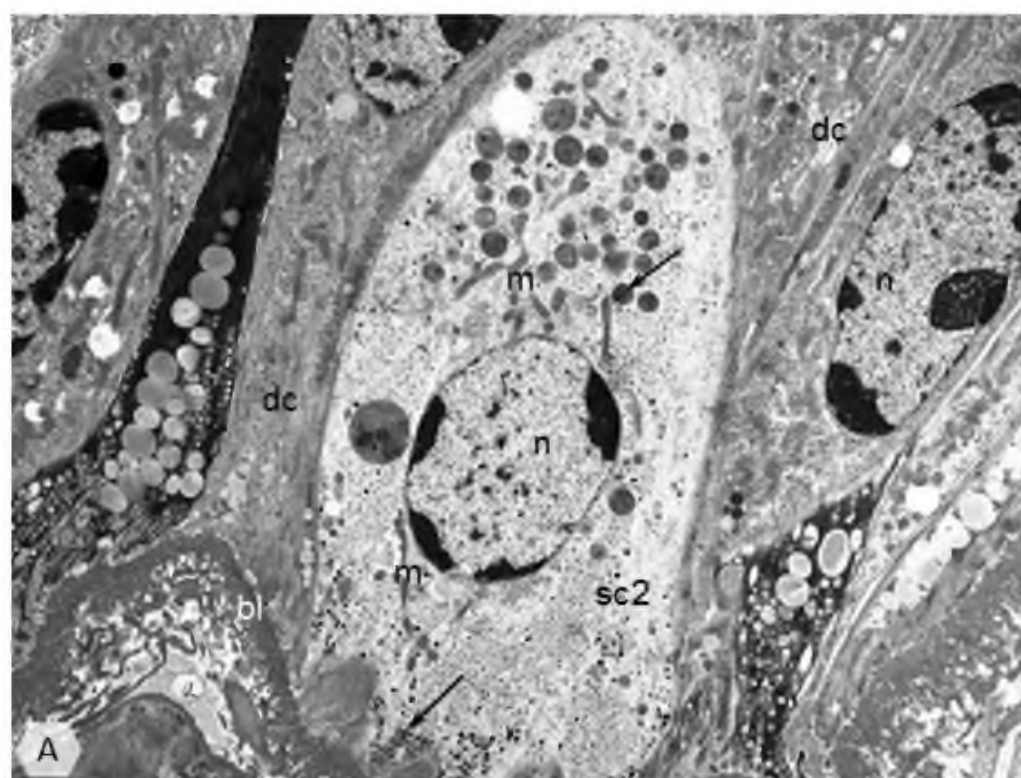
Fot. 21. Ultrastruktura komórek wydzielniczych typu pierwszego w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Wypustka cytoplazmatyczna komórki wydzielniczej typu pierwszego (**sc1**), przy pomocy której komórka kontaktuje się z błoną podstawną (**bl**). Granule (→), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 9 050.
- B.** Komórka wydzielnicza typu pierwszego (**sc1**) z dużym, owalnym jądrem komórkowym (**n**) i niewielkimi wakuolami (**v**). Błona podstawna (**bl**), granule (→), komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 5 350.
- C.** Desmosom punktowy (**czerwona** →), jako typ połączenia międzykomórkowego łączącego komórkę wydzielniczą typu pierwszego (**sc1**) z sąsiednimi komórkami trawiennymi (**dc**). Granule (**czarna** →). TEM, pow. x 20 900.
- D.** Liczne, drobne granule mające postać obłonionych pęcherzyków (**czarne** →), pomiędzy którymi zlokalizowane są elementy cytoszkieletu (**czerwona** →), występujące w całej cytoplazmie komórki wydzielniczej typu pierwszego (**sc1**). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**). TEM, pow. x 20 700.
- E.** Pozbawiona mikrokosmków błona apikalna komórki wydzielniczej typu pierwszego (**sc1**), niekontaktująca się ze światłem jelita. Granule (→), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 8 500.



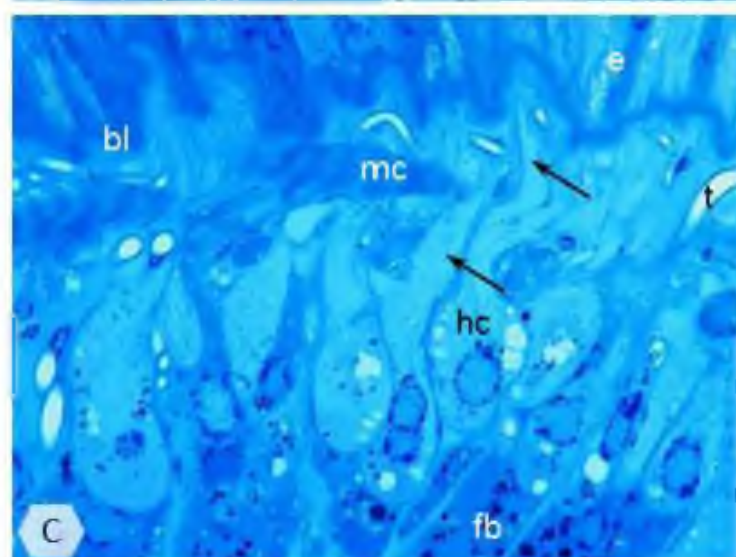
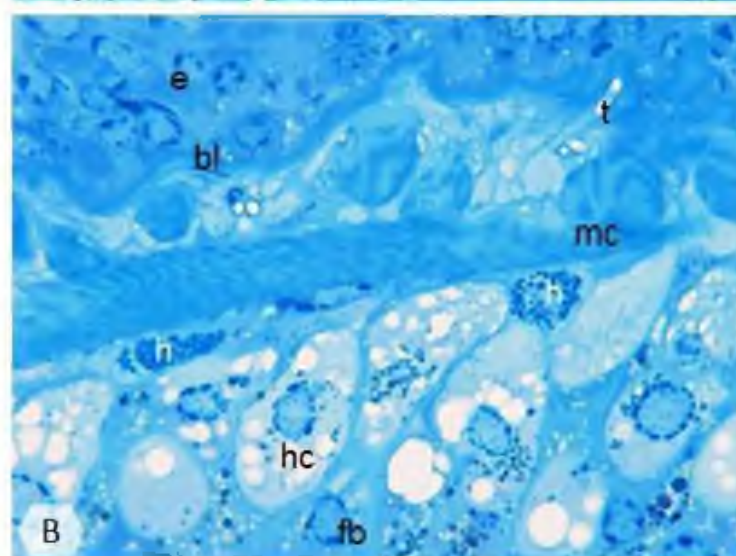
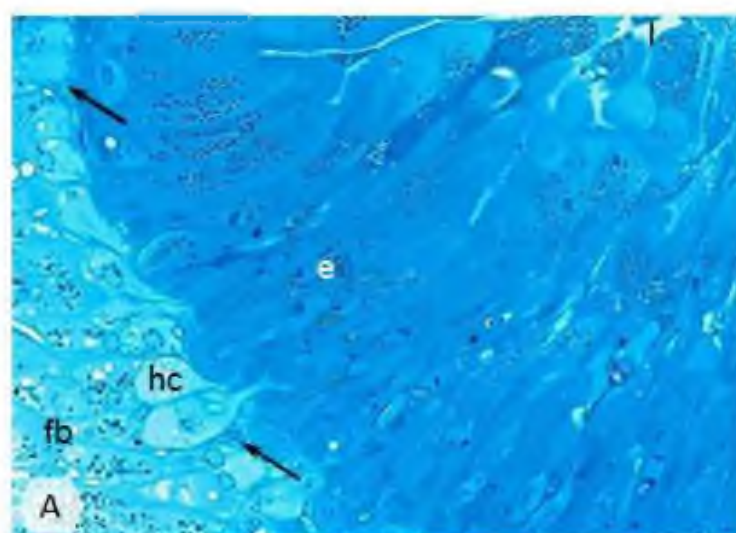
Fot. 22. Ultrastruktura komórek wydzielniczych typu drugiego w nabłonku jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Owalna komórka wydzielnicza typu drugiego (**sc2**) położona pomiędzy bazalnymi częściami komórek trawiennych (**dc**). Błona podstawna (**bl**), granule (→), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 5 750.
- B.** Część bazalna komórki wydzielniczej typu drugiego (**sc2**) z licznymi, drobnymi granulami (→) zgromadzonymi wewnątrz wypustek cytoplazmatycznych w bliskim kontakcie z błoną podstawną (**bl**). Komórka trawienna (**dc**), ziarna glikogenu (**g**). TEM, pow. x 22 800.
- C.** Cytoplazma części apikalnej komórki wydzielniczej typu drugiego (**sc2**) z licznymi, większymi granulami (**czarne** →). Aparat Golgiego (**AG**), ciała lamellarne (**lb**), elementy cytoszkieletu (**czerwone** →), mitochondria (**m**), ziarna glikogenu (**g**). TEM, pow. x 26 000.



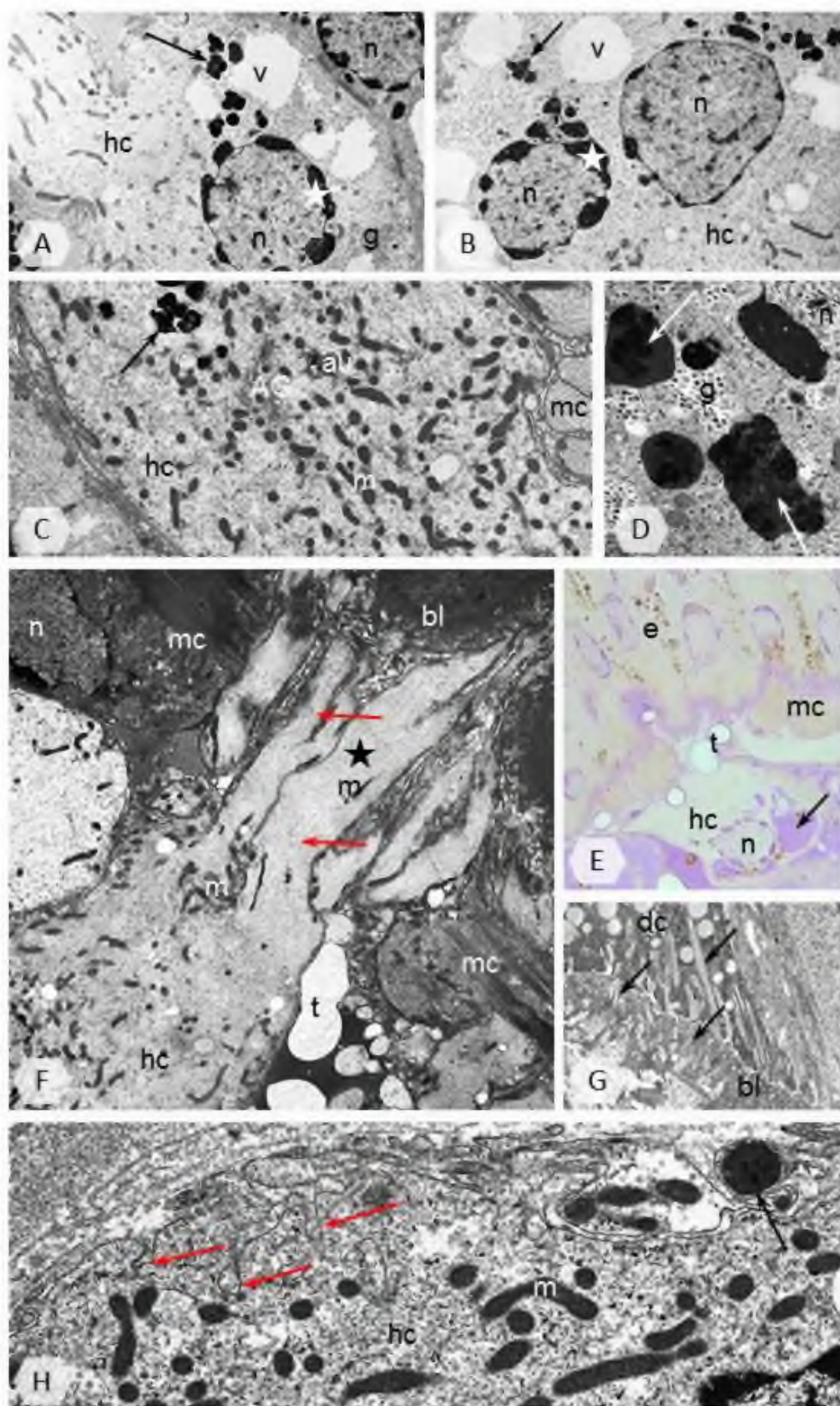
Fot. 23. Komórki otaczające jelito środkowe *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Lokalizacja komórek wątrobowych (**hc**) i hemocytów (→) w pobliżu jelita środkowego. Ciało tłuszczowe (**fb**), nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**l**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 430.
- B.** Równomierne rozmieszczenie komórek wątrobowych (**hc**) pod warstwą mięśni wisceralnych (**mc**). Błona podstawna (**bl**), ciało tłuszczowe (**fb**), hemocyty (**h**), nabłonek jelita środkowego (**e**), tchawki (**t**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 1 050.
- C.** Długie wypustki cytoplazmatyczne (→) komórek wątrobowych, umiejscowione pomiędzy mięśniami wisceralnymi (**mc**) i skierowane w stronę nabłonka jelita środkowego (**e**). Błona podstawna (**bl**), ciało tłuszczowe (**fb**), tchawki (**t**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 920.



Fot. 24. Ultrastruktura komórek wątrobowych *Archispirostreptus gigas*.

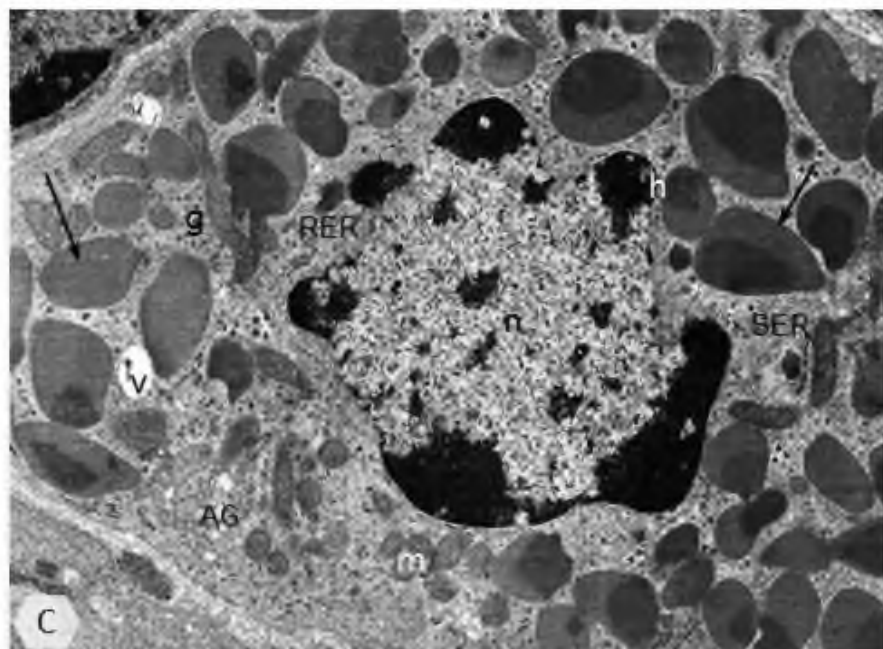
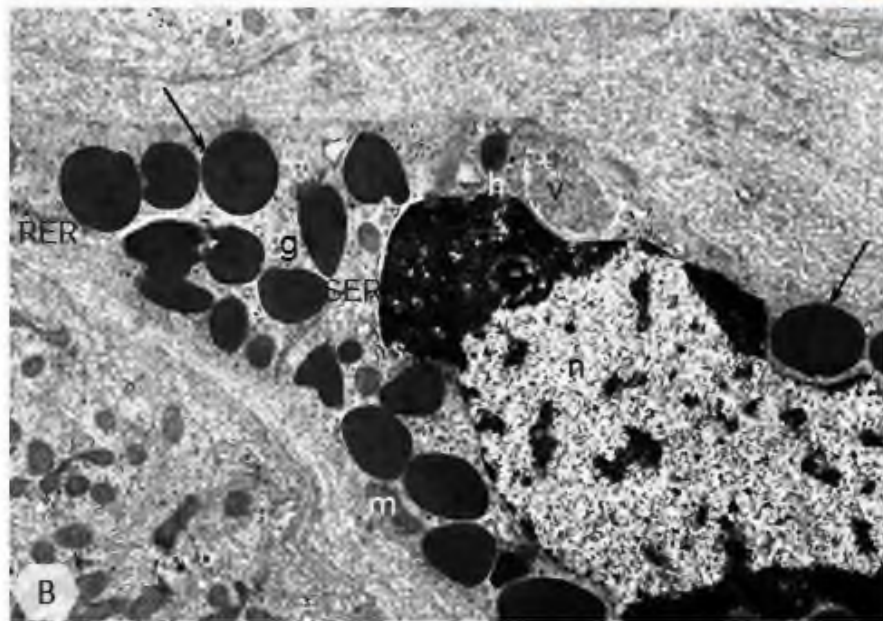
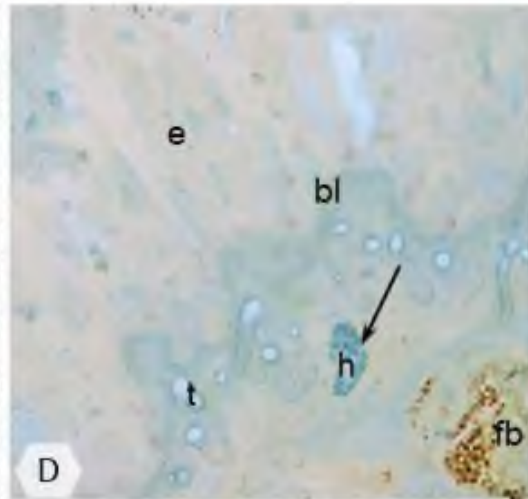
- A.** Najszersza część komórki wątrobowej (**hc**) z nieregularnym jądrem komórkowym (**n**) posiadającym uwypuklenia, wewnątrz których zlokalizowana jest heterochomatyna (**★**). Elektronowo gęsty materiał (**→**), wakuola (**v**), ziarna glikogenu (**g**). TEM, pow. x 3 800.
- B.** Komórka wątrobowa (**hc**) zawierająca dwa jądra komórkowe (**n**). Heterochomatyna (**★**), elektronowo gęsty materiał (**→**), wakuola (**v**). TEM, pow. x 3 800.
- C.** Cytoplazma komórki wątrobowej (**hc**) zawierająca liczne mitochondria (**m**), aparaty Golgiego (**AG**), autofagosomy (**au**) i elektronowo gęsty materiał (**→**). Mięśnie wisceralne (**mc**). TEM, pow. x 8 450.
- D.** Elektronowo gęste granule na terenie cytoplazmy komórek wątrobowych (**→**). Jądro komórkowe (**n**), ziarna glikogenu (**g**). TEM, pow. x 14 800.
- E.** Lokalizacja polisacharydów (**→**) w komórkach wątrobowych (**hc**). Jądro komórkowe (**n**), mięśnie wisceralne (**mc**), nabłonek jelita środkowego (**e**), tchawki (**t**). LM, reakcja PAS, pow. x 1 250.
- F.** Wypustka cytoplazmatyczna (**★**) komórki wątrobowej (**hc**) z równolegle ułożonymi elementami cytoszkieletu (**czerwone →**). Błona podstawna (**bl**), jądro komórkowe (**n**), mięśnie wisceralne (**mc**), mitochondria (**m**), tchawki (**t**). TEM, pow. x 5 250.
- G.** Cienkie, palczaste uwypuklenia (**→**) wypustek cytoplazmatycznych komórek wątrobowym przechodzące przez błonę podstawną (**bl**) i pozostające w bliskim sąsiedztwie inwaginacji błony bazalnej komórek trawiennych (**dc**). TEM, pow. x 9 300.
- H.** Wpuklenia błony komórkowej (**czerwone →**) w najszerszej części komórki wątrobowej (**hc**). Elektronowo gęsty materiał (**czarna →**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 11 500.



Fot. 25. Budowa hemocytów występujących w pobliżu jelita środkowego *Archispirostreptus gigas*.

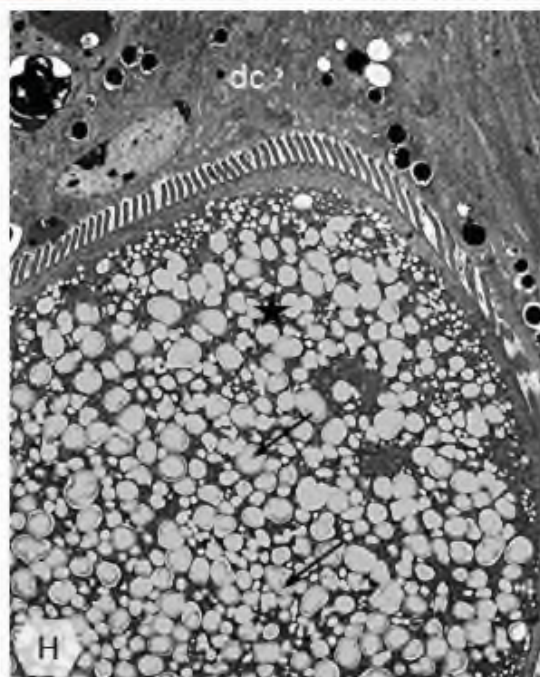
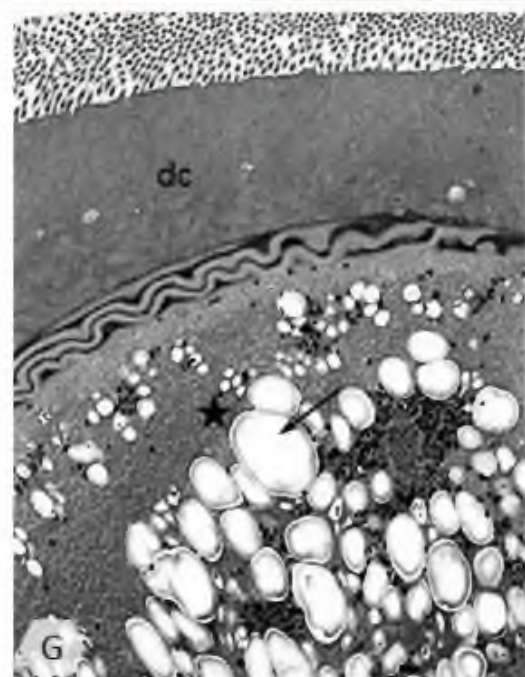
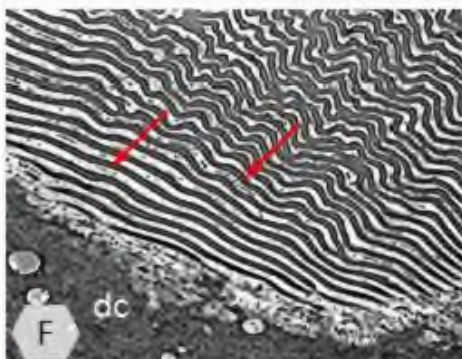
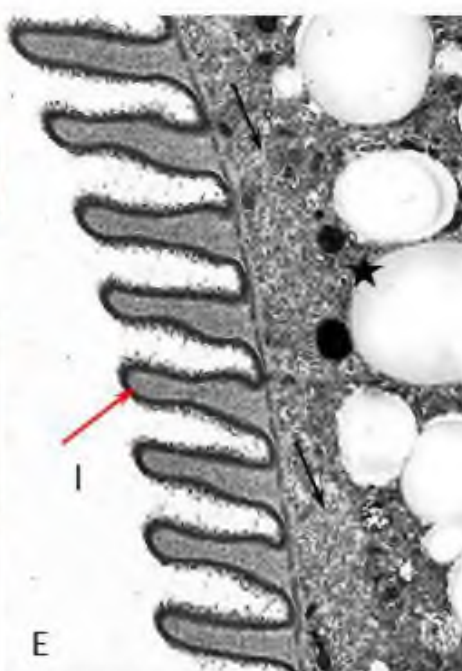
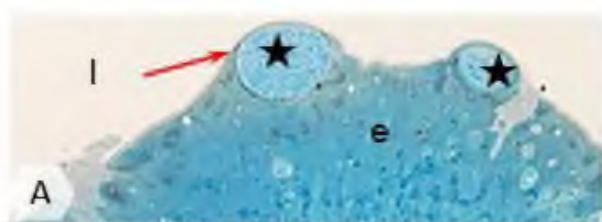
A-C. Ultrastruktura hemocytów (**h**) zawierających liczne granule (→) równomiernie rozmieszczone w cytoplazmie. TEM; **A** – błona podstawna (**bl**), jądro komórkowe (**n**), mięśnie wisceralne (**mc**), wakuole (**v**), pow. x 3 950; **B** – cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**), wakuole (**v**), ziarna glikogenu (**g**), pow. x 15 200; **C** – Aparat Golgiego (**AG**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**), wakuole (**v**), ziarna glikogenu (**g**), pow. x 14 100.

D. Hemocyt (**h**) z granulami zawierającymi materiał o charakterze białkowym (→). Błona podstawna (**bl**), ciało tłuszczowe (**fb**), nabłonek jelita środkowego (**e**), tchawki (**t**). LM, barwienie błękitem rtęciowo-bromofenolowym, pow. x 880.



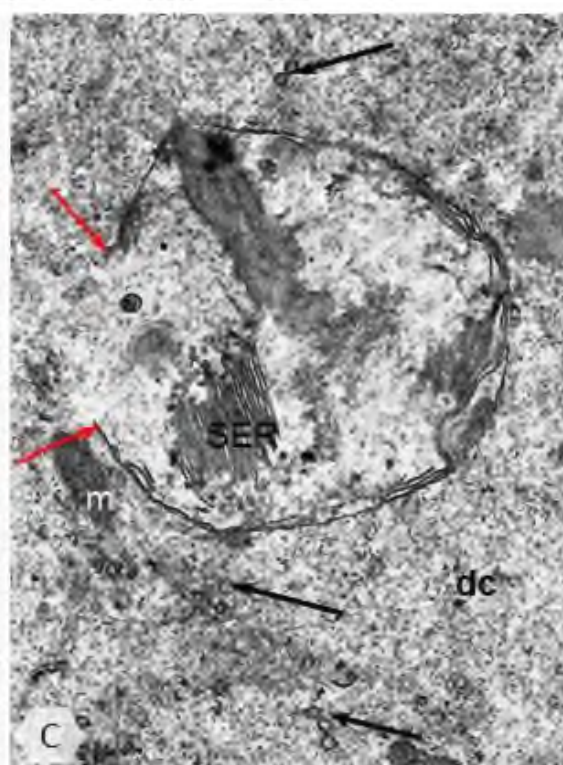
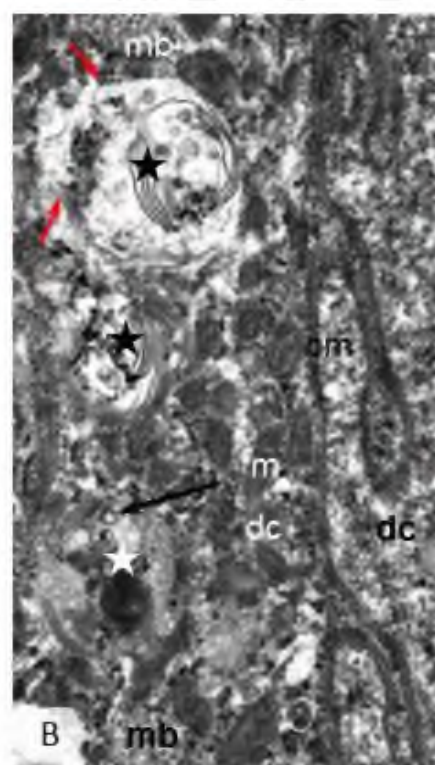
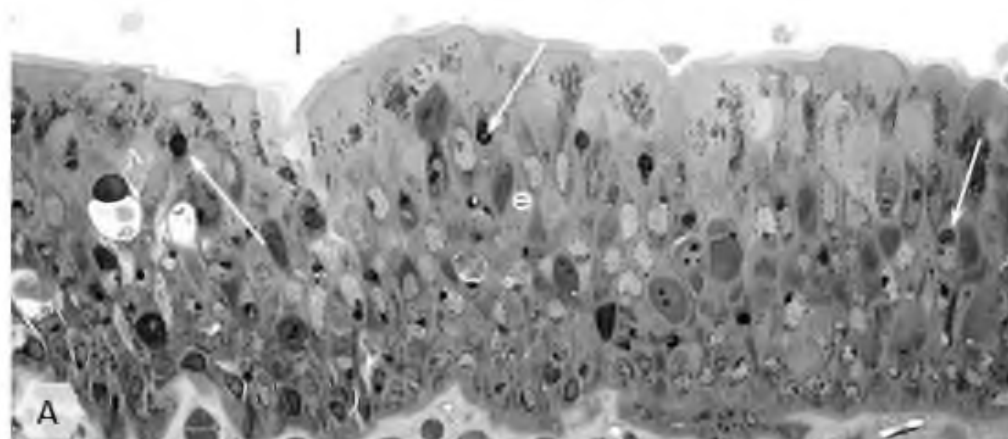
Fot. 26. Mikroorganizmy w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Mikroorganizmy (★) w apikalnych częściach komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego (**e**) tworzące uwypuklenia ściany jelita (**czerwona** →). Światło jelita (**I**). LM, barwienie błękitem metylenowym, pow. x 360.
- B.** Analiza histochemiczna mikroorganizmów (★) w jelicie środkowym. Jądro komórkowe (**n**), materiał zapasowy o charakterze polisacharydowym (→) (**kolor malinowo-czerwony**), nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**I**). LM, reakcja PAS, pow. x 470.
- C.** Analiza histochemiczna mikroorganizmów (★) w jelicie środkowym. Nabłonek jelita środkowego (**e**), materiał zapasowy o charakterze białkowym (→) (**kolor niebieski**), światło jelita (**I**). LM, barwienie błękitem rtęciowo-bromofenolowym, pow. x 480.
- D.** Analiza histochemiczna mikroorganizmów w jelicie środkowym; widoczne uwypuklenia ściany jelita (**czerwona** →) w miejscach zawierających mikroorganizmy (★). Materiał o charakterze lipidowym (**czarna** →) (**kolor ciemnobrunatny**), nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**I**). LM, barwienie Sudanem czarnym B, pow. x 400.
- E.** Budowa pofałdowanej błony komórkowej (**czerwona** →) mikroorganizmu (★) z widocznym pasem cytoplazmy pozbawionym materiałów zapasowych (**czarne** →). Światło jelita (**I**). TEM, pow. x 15 200.
- F.** Przekrój styczny przez błonę komórkową mikroorganizmu uorganizowaną w podłużne prążki (**czerwone** →). Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 6 700.
- G, H.** Cytoplazma mikroorganizmów (★) zawierająca liczne granule materiału zapasowego (→). Komórki trawienne (**dc**). TEM, **G** – pow. x 7 150; **H** – pow. x 2 500.



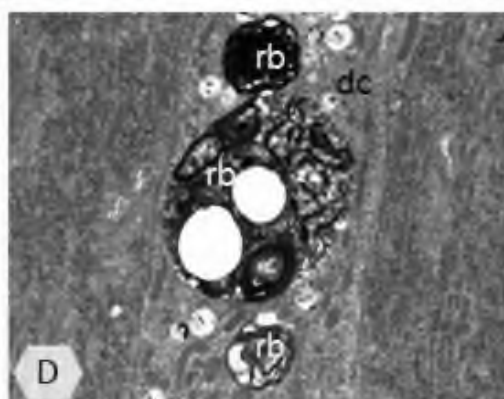
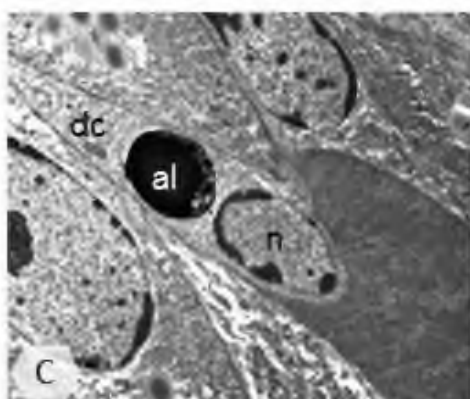
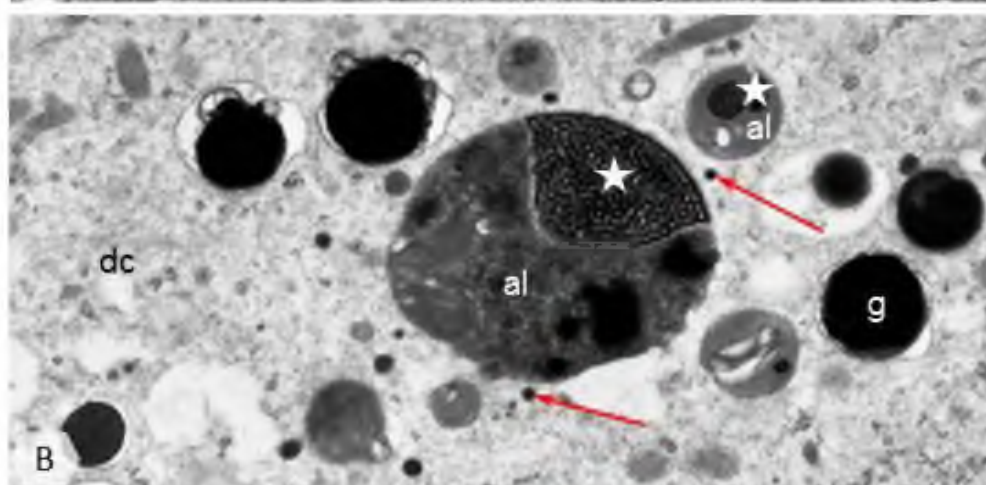
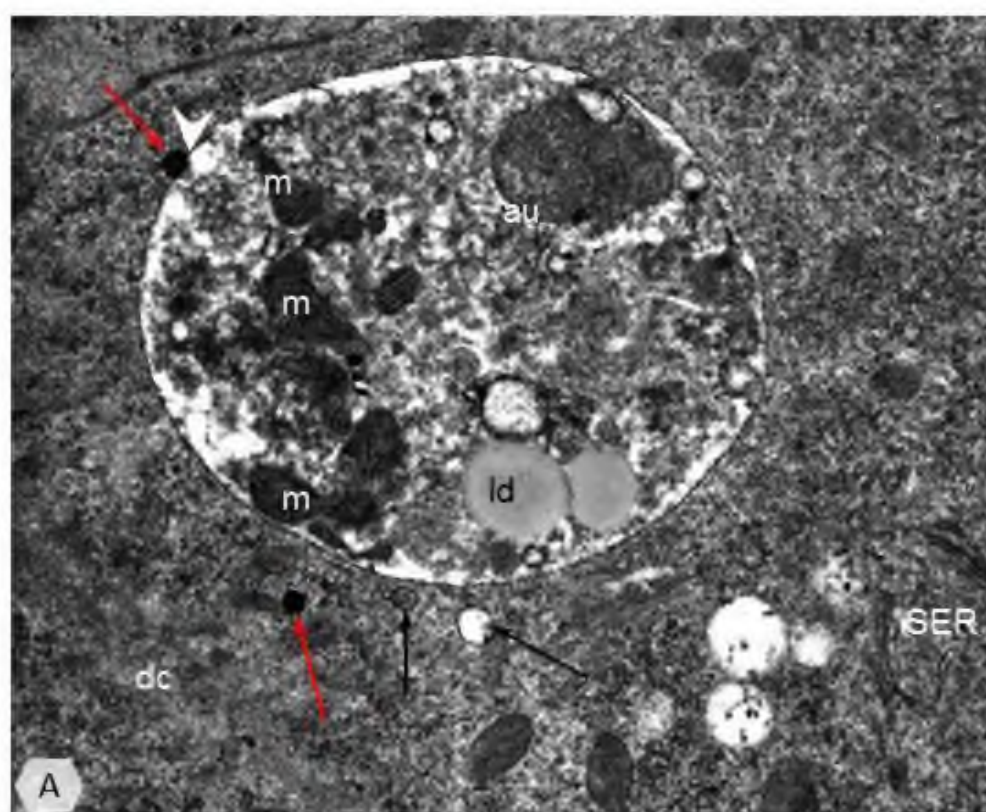
Fot. 27. Proces autofagii w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Lokalizacja procesu autofagii (→) w nabłonku jelita środkowego (**e**). Światło jelita (**l**). LM, barwienie błękitem metylenowym, pow. x 520.
- B.** Degenerujące organelle komórkowe (★) otaczane błonami fagoforu (**czerwona** →). Błona komórkowa (**cm**), ciało wielopęcherzykowe (**mb**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), pęcherzyki (**czarna** →). TEM, pow. x 26 200.
- C.** Wydłużające się błony fagoforu (**czerwona** →) w sąsiedztwie licznych pęcherzyków (**czarna** →). Cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 27 900.



Fot. 28. Proces autofagii w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Autofagosom (**au**) z licznymi mitochondriami (**m**) zamkniętymi w jego wnętrzu, do którego błony przyłącza się lizosom (➤). Cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), komórka trawienna (**dc**), krople lipidowe (**ld**), lizosomy (**czerwone** →), pęcherzyki (**czarne** →). TEM, pow. x 31 000.
- B.** Autolizosomy (**al**) z heterogennym materiałem o włóknistej strukturze (**★**). Komórka trawienna (**dc**), granule (**g**), lizosomy (**czerwone** →). TEM, pow. x 22 700.
- C.** Autolizosom (**al**) w regionie okołojądrowym komórki trawiennej (**dc**). Jądro komórkowe (**n**). TEM, pow. x 4 350.
- D.** Ciała resztkowe (**rb**) w regionie apikalnym komórki trawiennej (**dc**). TEM, pow. x 10 200.

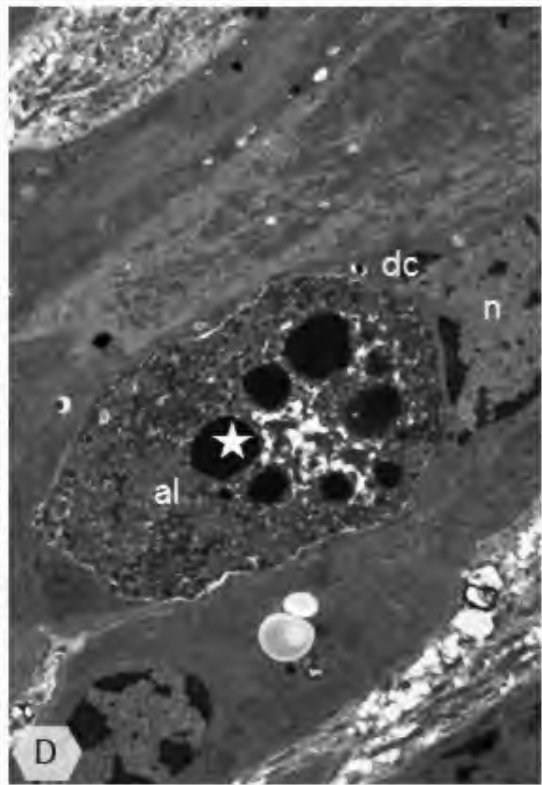
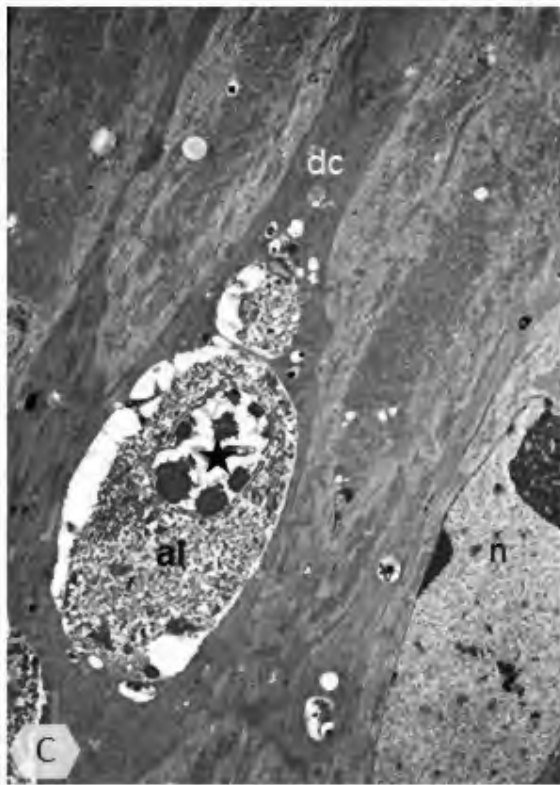
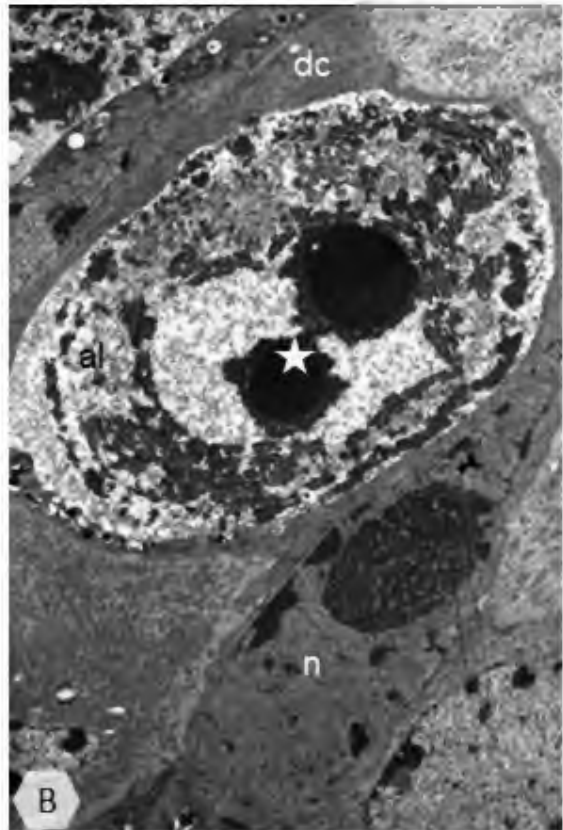
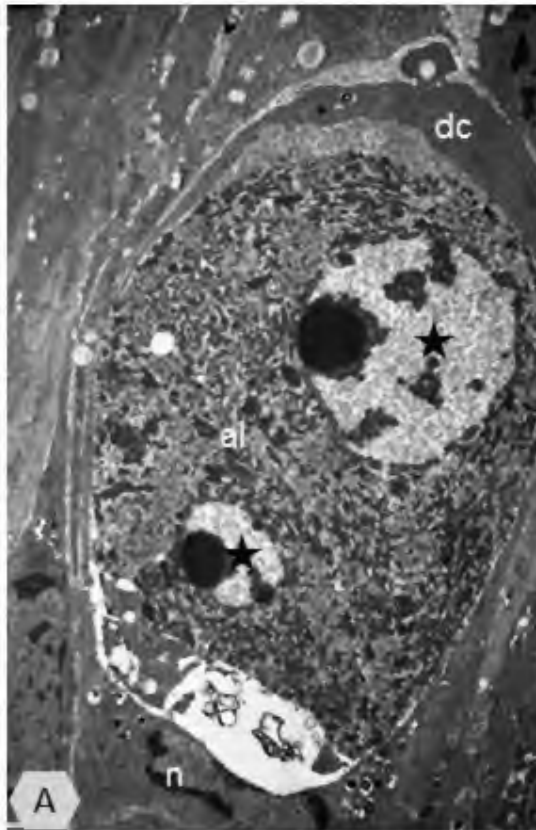


Fot. 29. Proces autofagii w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

A-D. Autolizosomy (**al**) zawierające wewnątrz elementy jądra komórkowego (**★**).

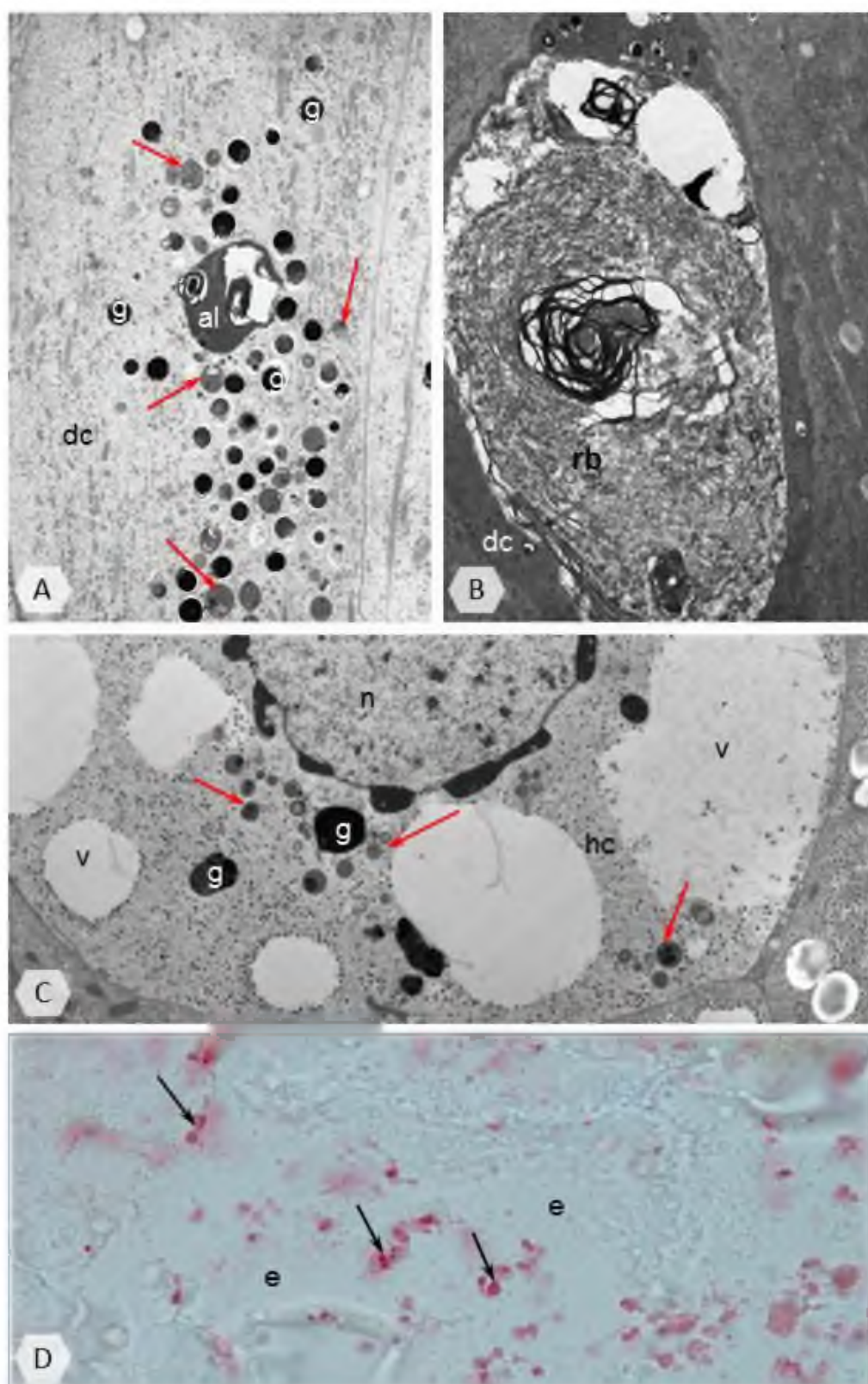
Komórka trawienna (**dc**), jądro komórkowe (**n**). TEM, **A** – pow. x 4 850;

B – pow. x 6 400; **C** – pow. x 5 100; **D** – pow. x 6 050.



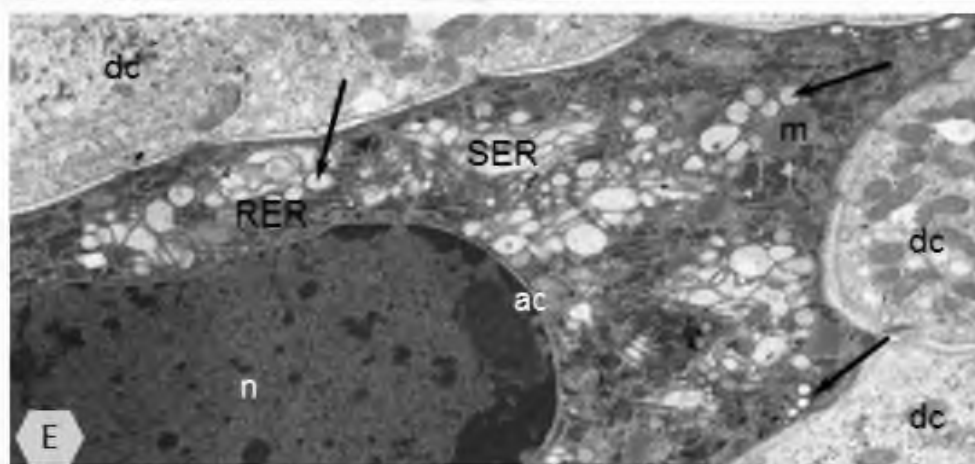
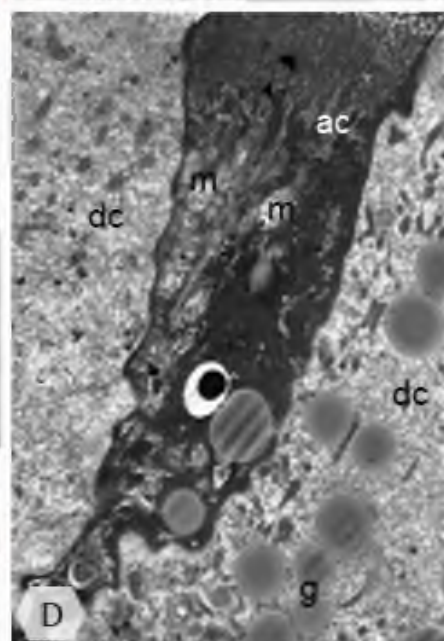
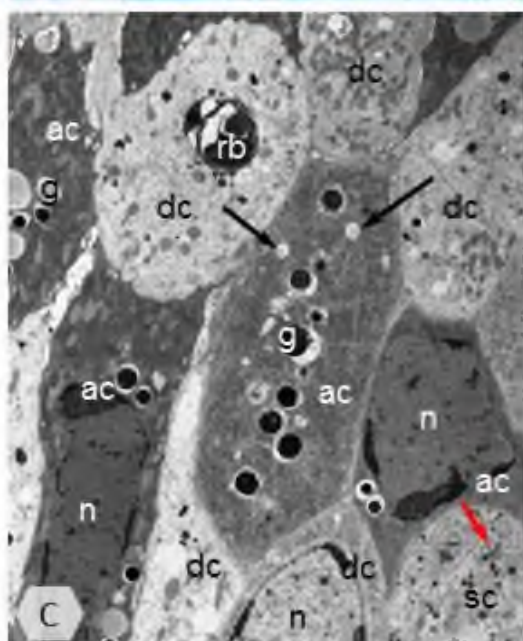
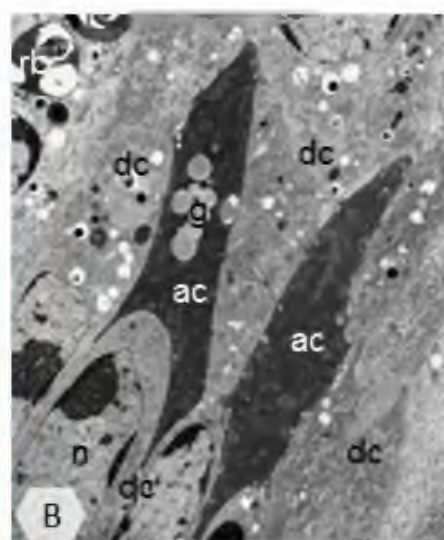
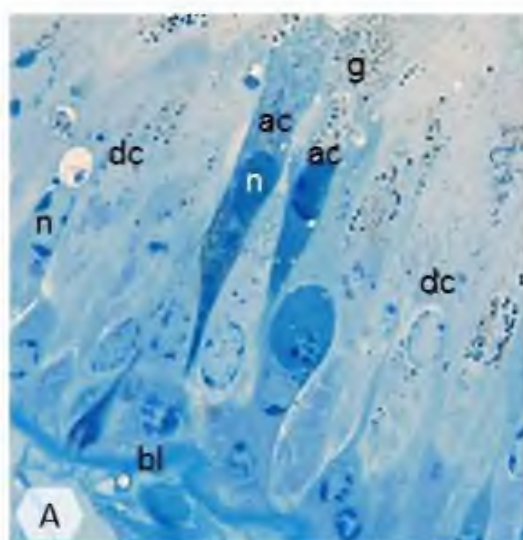
Fot. 30. Proces autofagii w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Liczne i drobne autofagosomy (**czerwone** →) i autolizosomy (**al**) w komórce trawiennej (**dc**). Granule (**g**). TEM, pow. x 7 400.
- B.** Ciało reszkowe (**rb**) – pozostałość po procesie degradacji zachodzącej w nukleofagosomie. Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 7 450.
- C.** Drobne autofagosomy (**czerwone** →) w cytoplazmie komórki wątrobowej (**hc**). Granule elektronowo gęstego materiału (**g**), jądro komórkowe (**n**), wakuole (**v**). TEM, pow. x 7 850.
- D.** Pozytywny wynik reakcji (→) wykrywającej aktywność fosfatazy kwaśnej (**kolor różowoczerwony**) w obszarze nabłonka jelita środkowego (**e**). LM, pow. x 520.



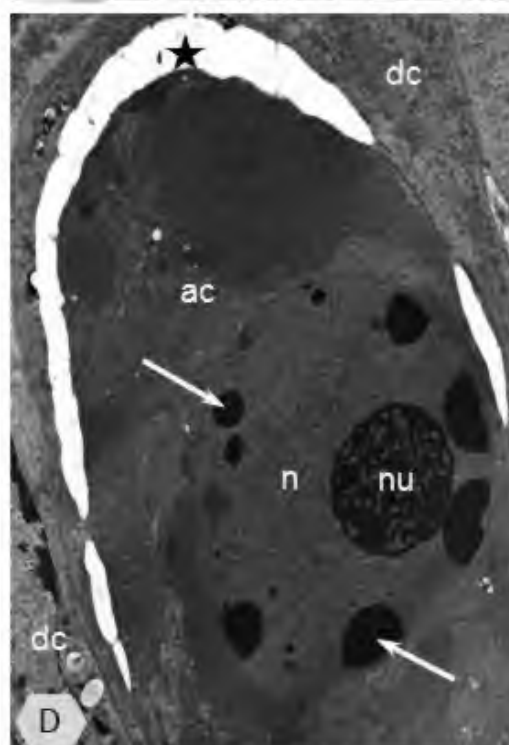
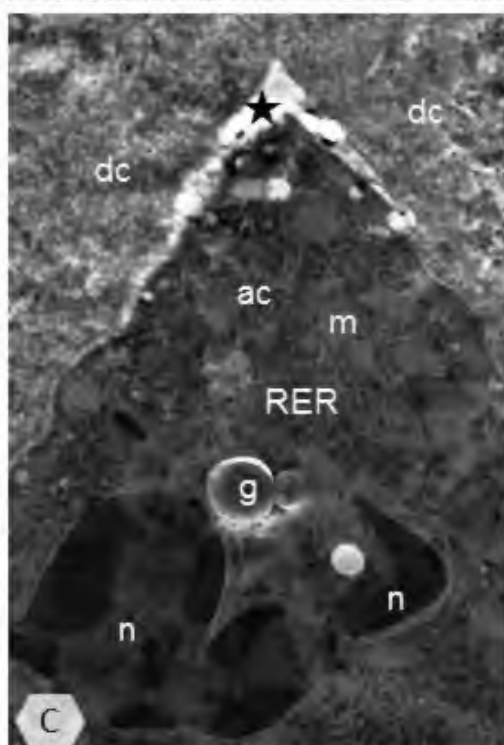
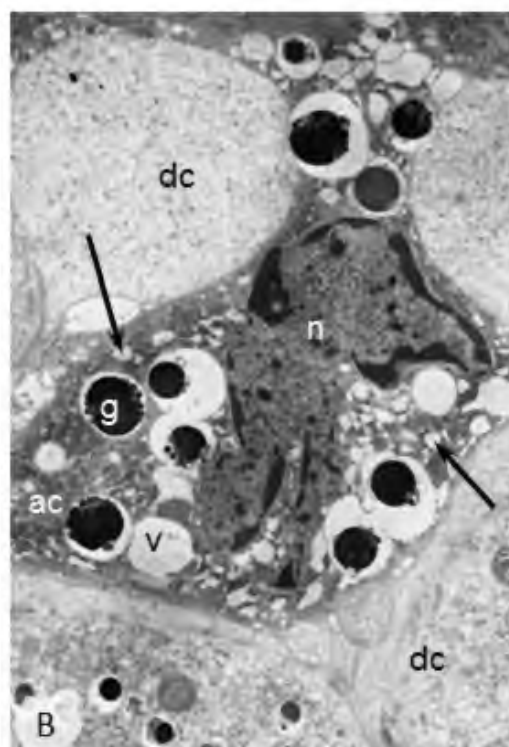
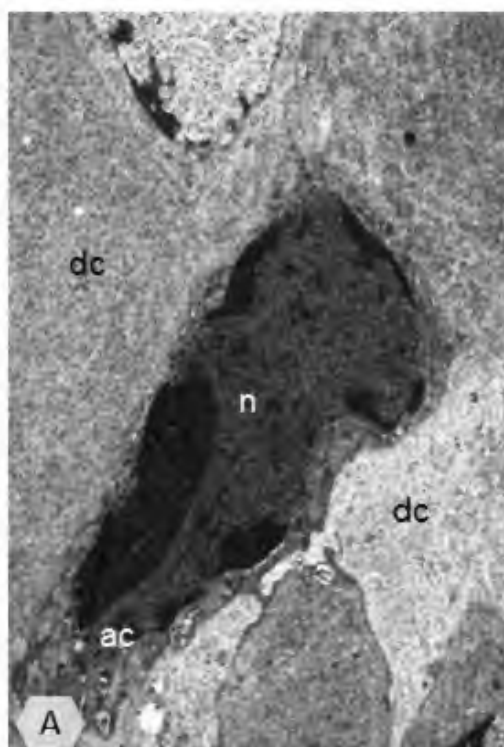
Fot. 31. Proces apoptozy w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Lokalizacja komórek apoptotycznych (**ac**) w nabłonku jelita środkowego. Błona podstawna (**bl**), granule (**g**), jądro komórkowe (**n**), komórki trawienne (**dc**). LM, barwienie błękitem metylenowym, pow. x 830.
- B, C.** Proces apoptozy zachodzący jednocześnie w kilku komórkach trawiennych na terenie nabłonka jelita środkowego. Ciało reszkowe (**rb**), granule (**g**), jądro komórkowe (**n**), komórka apoptotyczna (**ac**), komórka trawienna (**dc**). TEM; **B** – pow. x 4 350; **C** – granule komórki wydzielniczej (**czerwona** →), komórka wydzielnicza (**sc**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (→), pow. x 4 050.
- D.** Ultrastruktura cytoplazmy apikalnej komórki apoptotycznej (**ac**). Granule (**g**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 7 050.
- E.** Ultrastruktura cytoplazmy okołojądrowej komórki apoptotycznej (**ac**). Cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (→). TEM, pow. x 15 000.



Fot. 32. Proces apoptozy w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

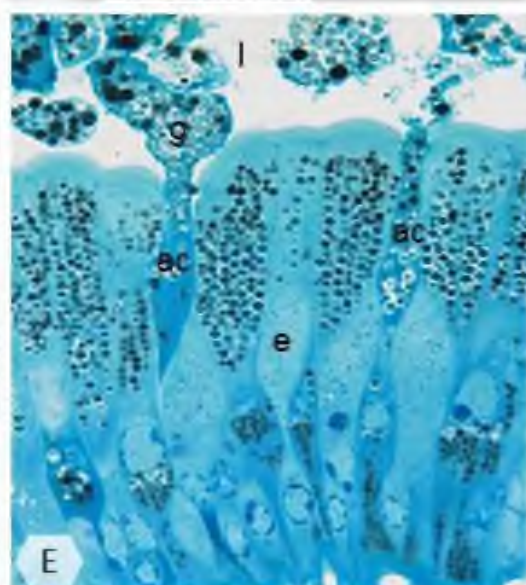
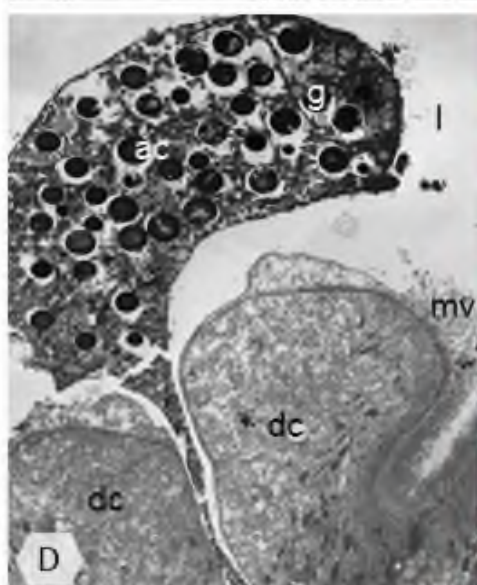
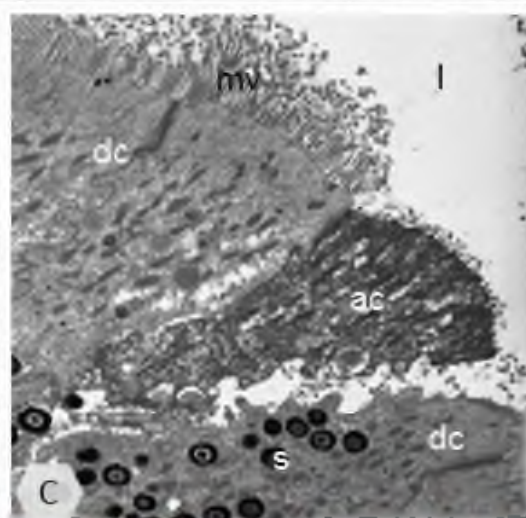
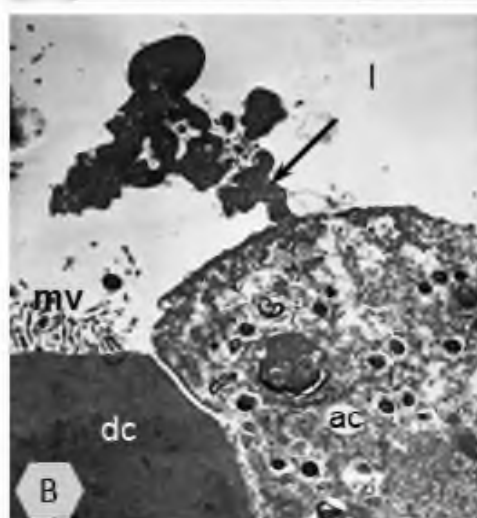
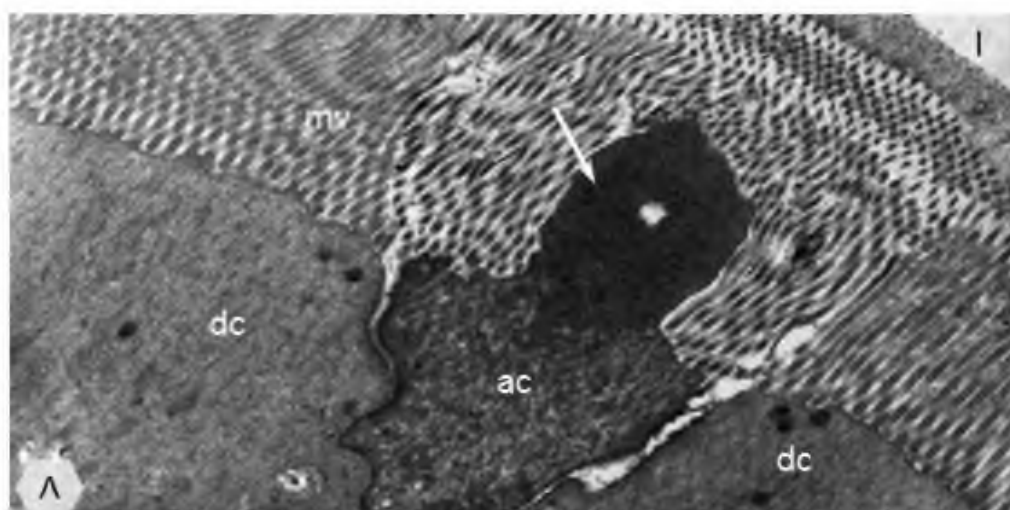
- A.** Komórka apoptotyczna (**ac**) z elektronowo gęstym, obkurczonym jądrem komórkowym (**n**). Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 9 400.
- B.** Wakuolizacja cytoplazmy komórki apoptotycznej (**ac**) na terenie nabłonka jelita środkowego z przejawami nekrozy wtórnej. Granule (**g**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (\rightarrow), wakuola (**v**). TEM, pow. x 8 950.
- C.** Zmieniona struktura organelli komórkowych komórki apoptotycznej (**ac**). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), granule (**g**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), przestrzeń międzykomórkowa (**★**). TEM, pow. x 14 600.
- D.** Marginalizacja chromatyny jądrowej (\rightarrow) w jądrze komórkowym komórki apoptotycznej (**ac**). Jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), przestrzeń międzykomórkowa (**★**). TEM, pow. x 8 300.



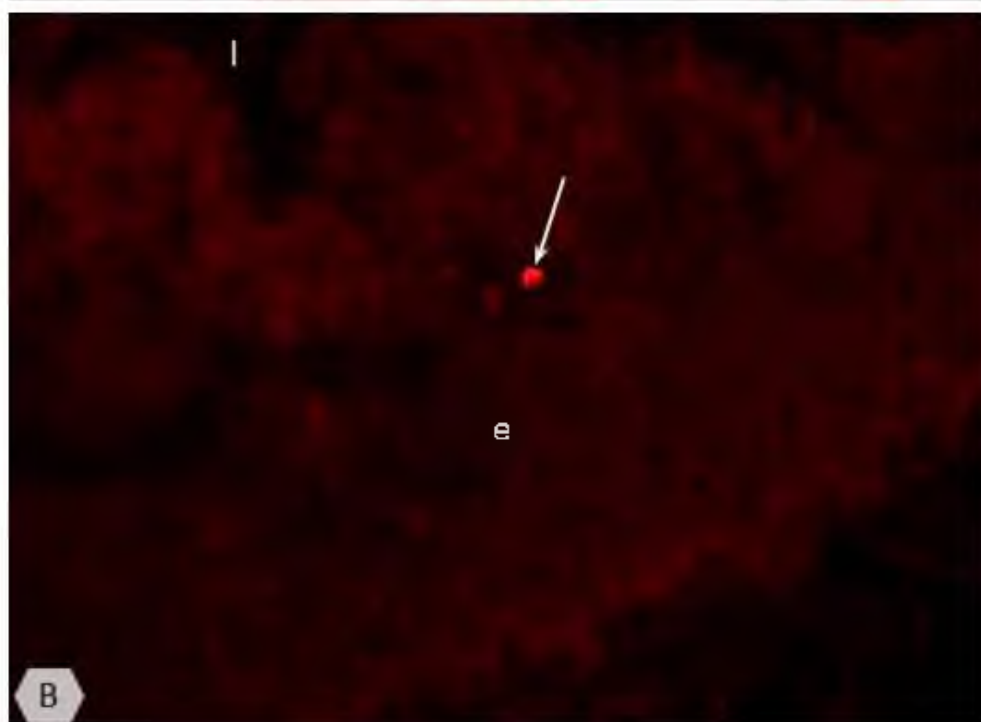
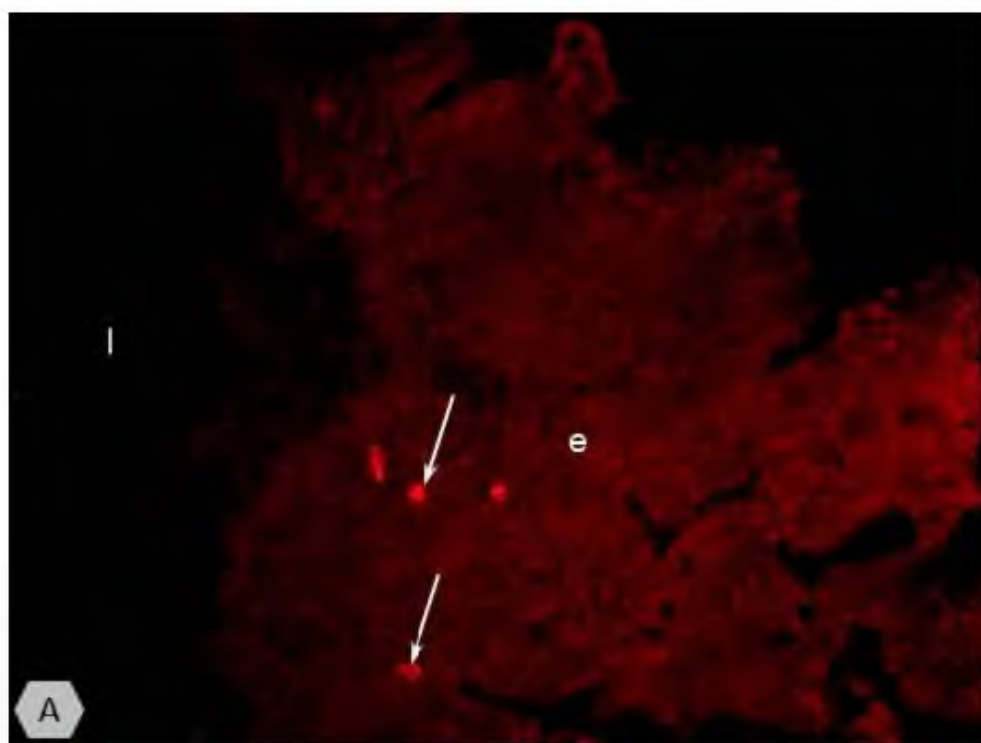
Fot. 33. Proces apoptozy w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

A, B. Fragmentacja cytoplazmy (→) komórki apoptotycznej (**ac**) w świetle jelita (**I**). Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**). TEM, **A.** pow. x 18 200, **B.** pow. x 8 950.

C-E. Usuwanie komórki apoptotycznej (**ac**) z nabłonka jelita środkowego do światła jelita (**I**). **C** – komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**), sferyty (**s**), TEM, pow. x 6 650; **D** – granule (**g**), komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**), TEM, pow. x 2 750; **E** – granule (**g**), nabłonek jelita środkowego (**e**), LM, barwienie błękitem metylenowym, pow. x 700.

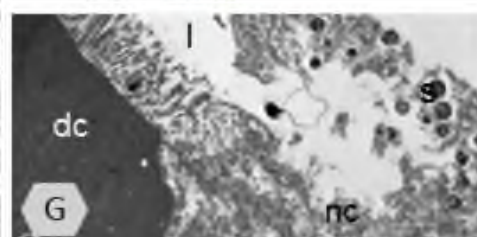
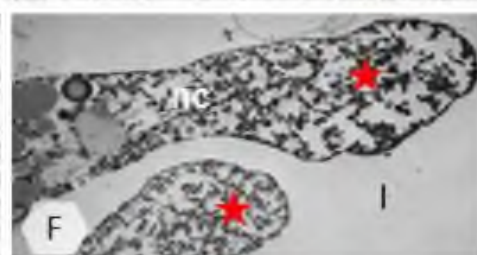
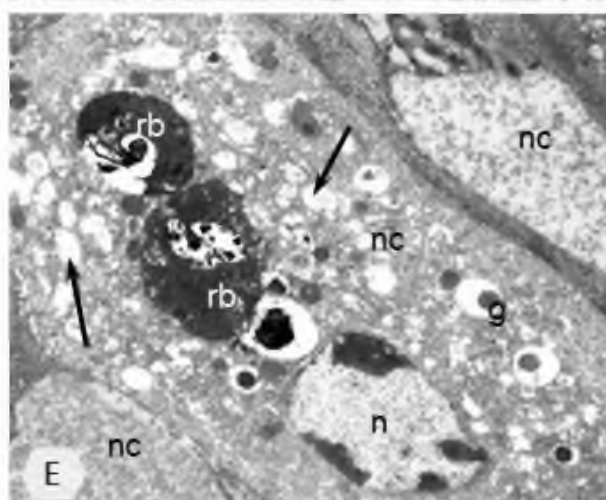
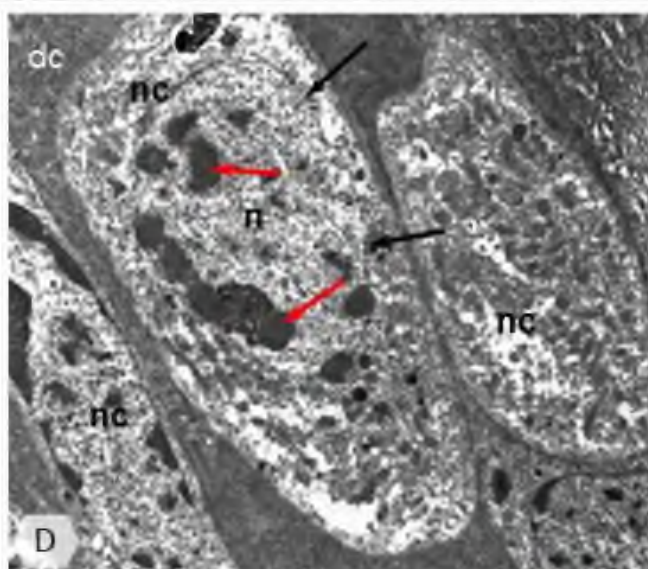
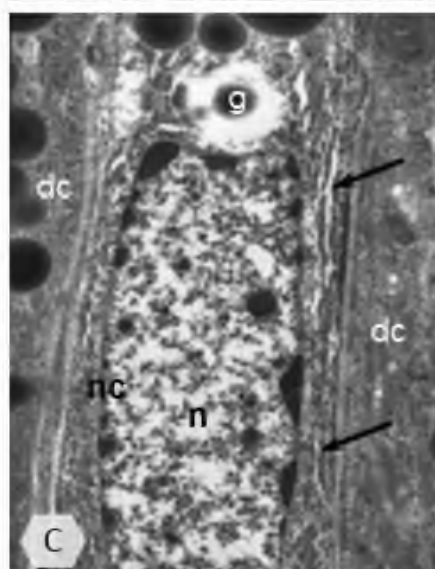
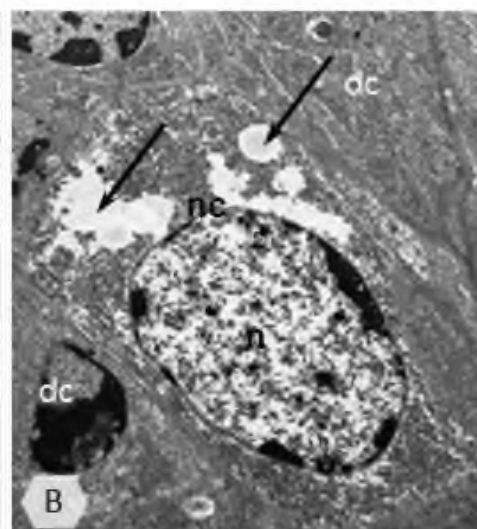
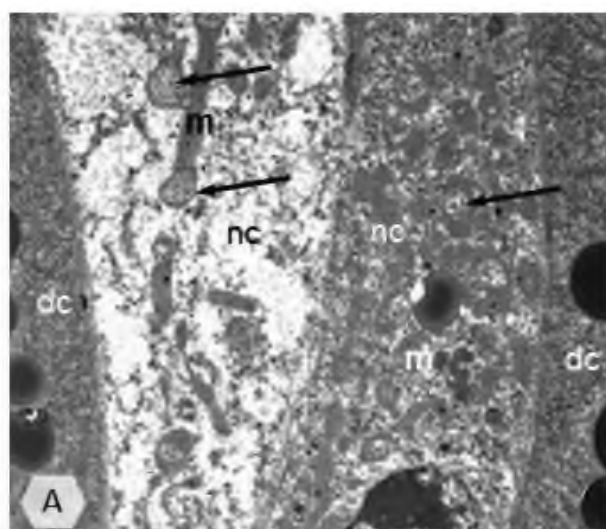


Fot. 34A, B. Lokalizacja komórek apoptotycznych (→) w nabłonku jelita środkowego
(**e**) *Archispirostreptus gigas*. Światło jelita (**I**), jądra komórek apoptotycznych
(*kolor czerwony*). FM, reakcja TUNEL; **A** – pow. x 360; **B** – pow. x 480.



Fot. 35. Proces nekrozy w jelicie środkowym *Archispirostreptus gigas*.

- A.** Komórki nekrotyczne (**nc**) zawierające mitochondria (**m**) o zmienionej budowie (→). Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 9 750.
- B.** Komórka nekrotyczna (**nc**) z elektronowo jasnym jądrem komórkowym (**n**) i elektronowo-jasnymi wakuolami tworzącymi się w cytoplazmie (→). Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 5 400.
- C.** Rozdęte cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (→) w regionie okołojądrowym komórki nekrotycznej (**nc**). Granule (**g**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 11 800.
- D.** Transformacja jądra komórkowego (**n**) komórki nekrotycznej (**nc**) z widoczną kondensacją chromatyny jądrowej (**czerwone** →) i rozerwaniem otoczki jądrowej (**czarne** →). Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 6 300.
- E.** Wakuolizacja (→) cytoplazmy komórki nekrotycznej (**nc**). Ciała resztkowe (**rb**), granule (**g**), jądro komórkowe (**n**). TEM, pow. x 7 800.
- F.** Buławkowate uwypuklenia błony apikalnej (**czerwona** ★) komórek nekrotycznych (**nc**) do światła jelita (**I**). TEM, pow. x 2 650.
- G.** Utrata integralności błony komórkowej komórki nekrotycznej (**nc**) w świetle jelita (**I**). Komórka trawienna (**dc**), sferyty (**s**). TEM, pow. x 7 200.



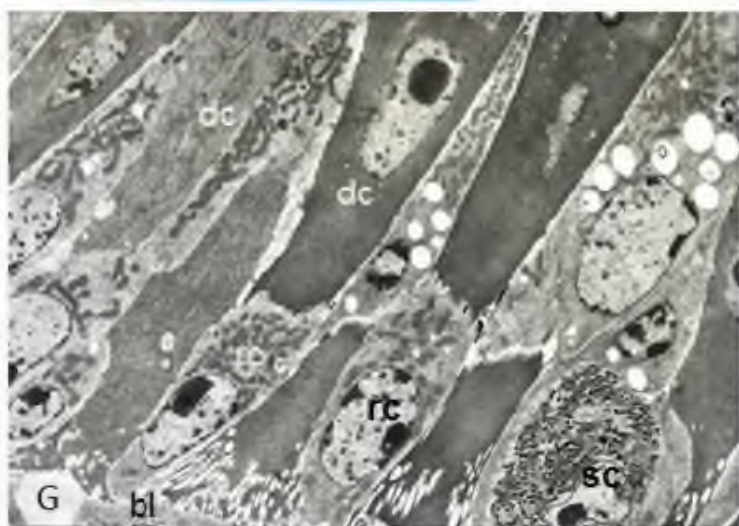
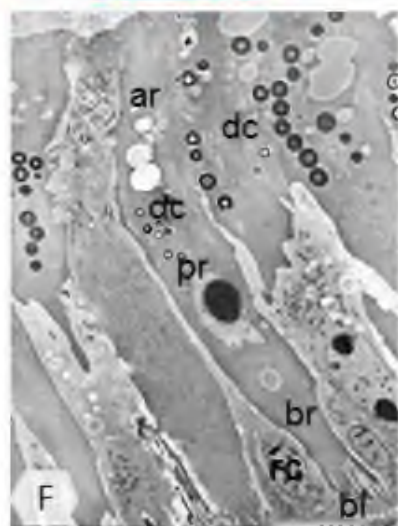
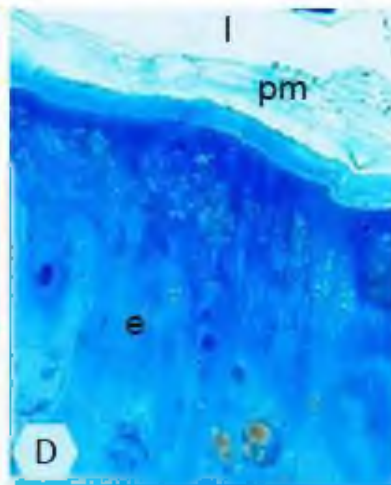
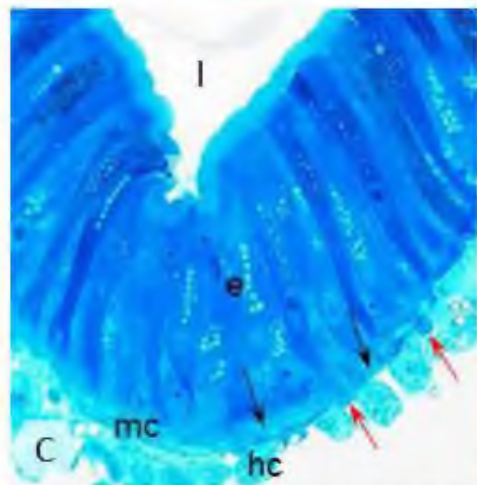
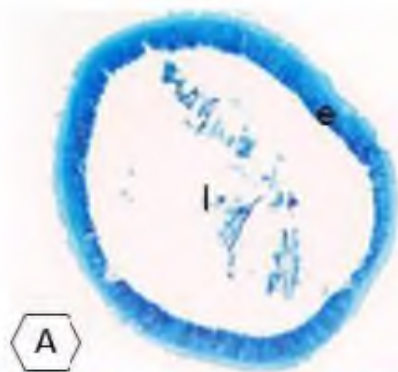
Fot. 36. Organizacja przewodu pokarmowego *Julus scandinavus*.

- A.** Ogólna budowa układu pokarmowego *J. scandinavus*. Gruczoły ślinowe (**sg**), jelito przednie (**fg**), jelito środkowe (**mg**), jelito tylne (**hg**), odcinek pyloryczny (**p**). SM, pow. x 7,6.
- B.** Początkowy odcinek jelita środkowego (**mg**) wraz z niewielką zastawką kardialną (**cv**). SM, pow. x 18.
- C.** Odcinek pyloryczny (**p**) łączący jelito środkowe (**mg**) z jelitem tylnym (**hg**). SM, pow. x 15.



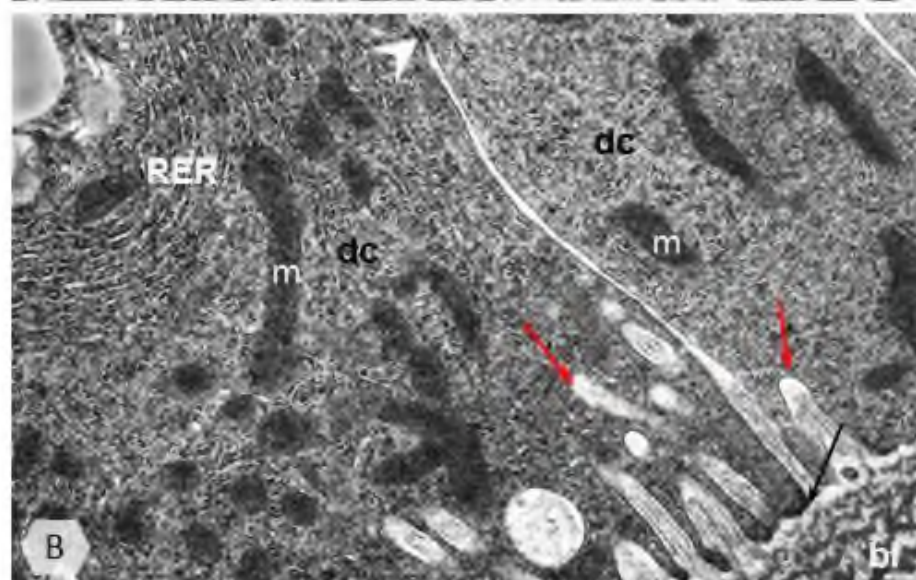
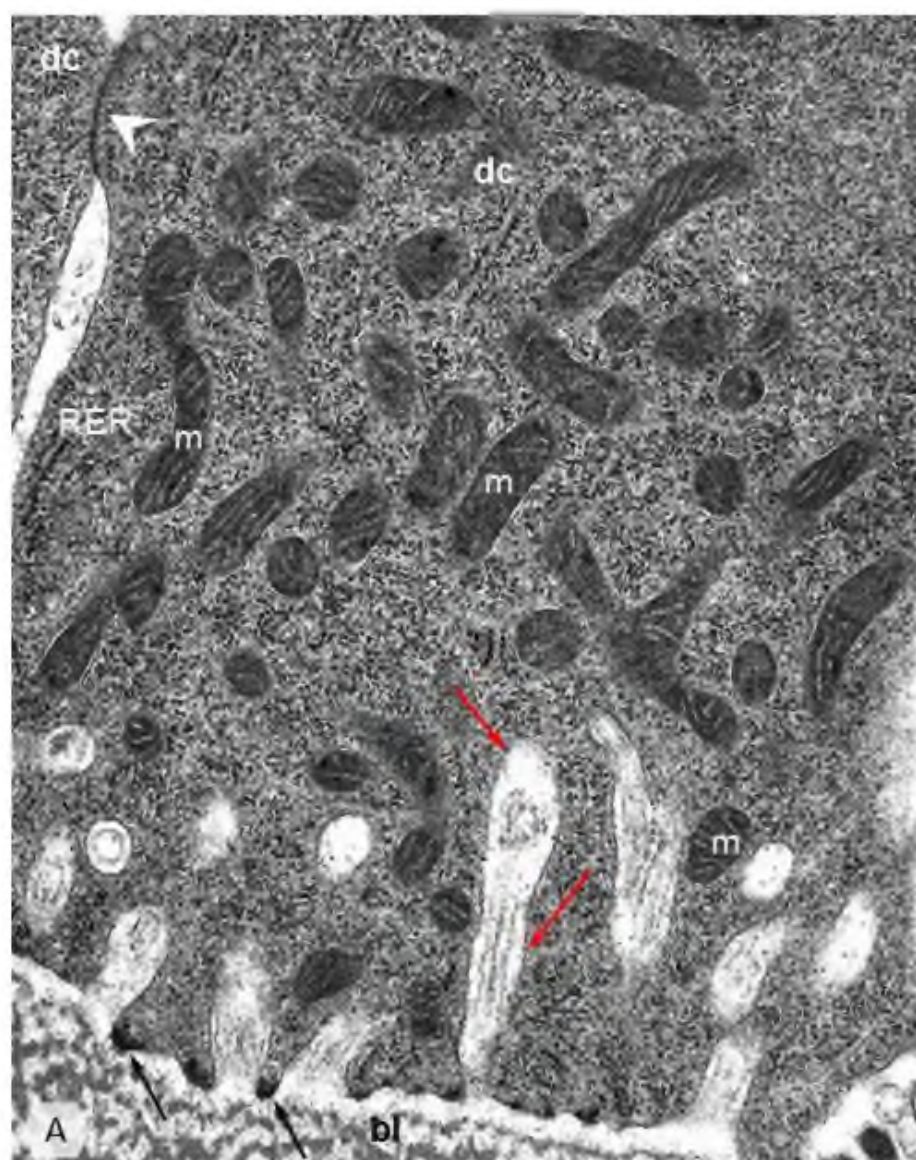
Fot. 37. Budowa nabłonka jelita środkowego *Julus scandinavius*.

- A.** Przekrój poprzeczny przez jelito środkowe *J. scandinavius*. Nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**I**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 55.
- B. C.** Przekrój poprzeczny przez ścianę jelita. Mięśnie wisceralne (**mc**) o przebiegu okrężnym (**czarne** →) i podłużnym (**czerwone** →), komórki wątrobowe (**hc**), nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**I**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, **B** – pow. x 320, **C** – pow. x 630.
- D.** Wielowarstwowa błona perytroficzna (**pm**) wyściełająca nabłonek jelita środkowego (**e**). Światło jelita (**I**). LM, materiał barwiony błękitem metylenowym, pow. x 820.
- E.** Budowa strukturalna błony perytroficznej (**pm**). Światło jelita (**I**). TEM, pow. x 15 200.
- F.** Struktura jednowarstwowego wielorzędkowego nabłonka jelita środkowego zbudowanego głównie z cylindrycznych komórek trawiennych (**dc**) z wyróżnionym regionem apikalnym (**ar**), regionem bazalnym (**br**) i regionem okołojądrowym (**pr**). Błona podstawna (**bl**), komórka regeneracyjna (**rc**). TEM, pow. x 1 300.
- G.** Lokalizacja trzech typów komórek budujących nabłonek jelita środkowego. Błona podstawna (**bl**), komórka regeneracyjna (**rc**), komórka trawienna (**dc**), komórka wydzielnicza (**sc**). TEM, pow. x 3 300.



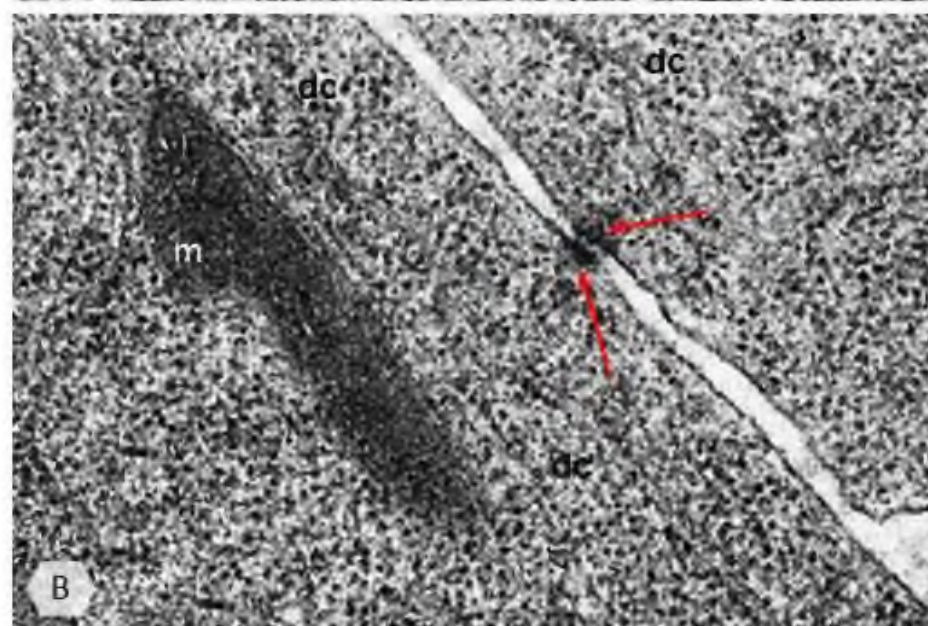
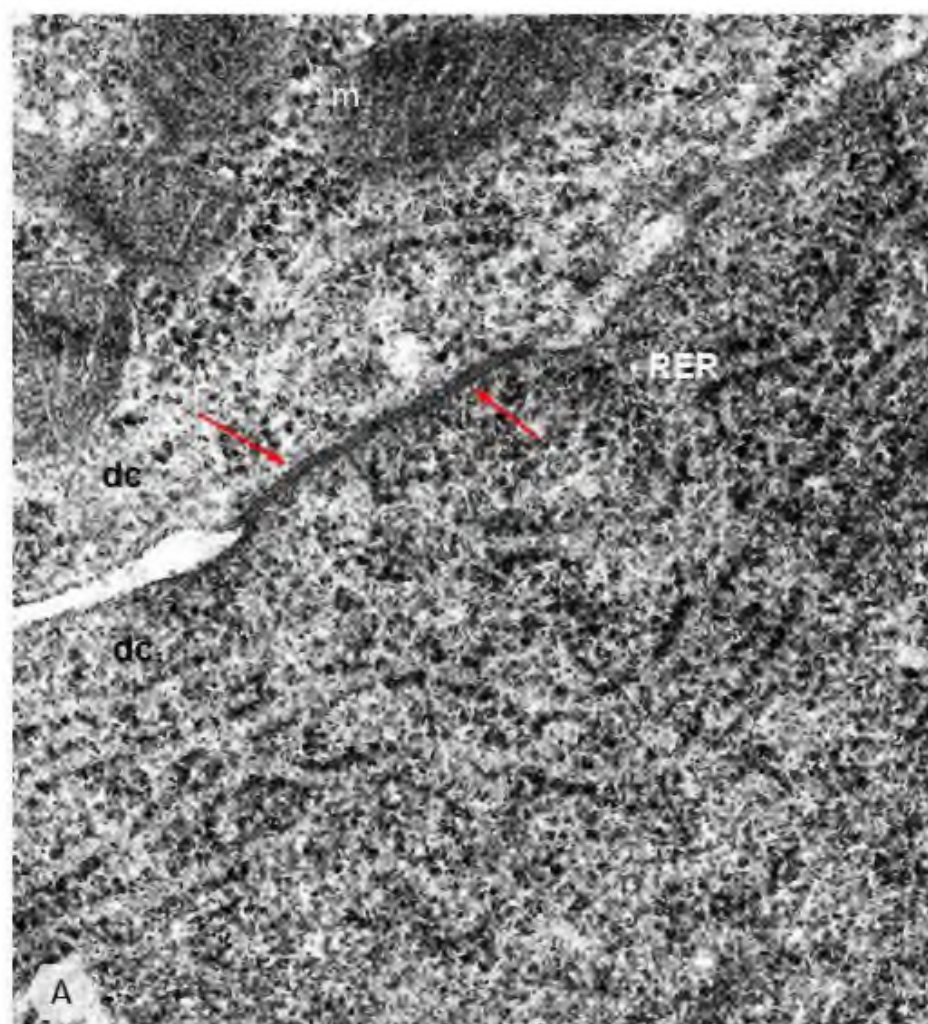
Fot. 38. Ultrastruktura regionu bazalnego cytoplazmy komórek trawiennych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavius*.

A, B. Cytoplazma regionu bazalnego komórek trawiennych wraz z występującymi w niej organellami komórkowymi; błona bazalna komórek trawiennych tworzy liczne wpuklenia (**czerwone** →), a w miejscach kontaktu z błoną podstawną (**bl**) występują hemidesmosomy (**czarne** →). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), połączenia międzykomórkowe (➤). TEM, **A** – pow. x 39 500; **B** – pow. x 23 200.



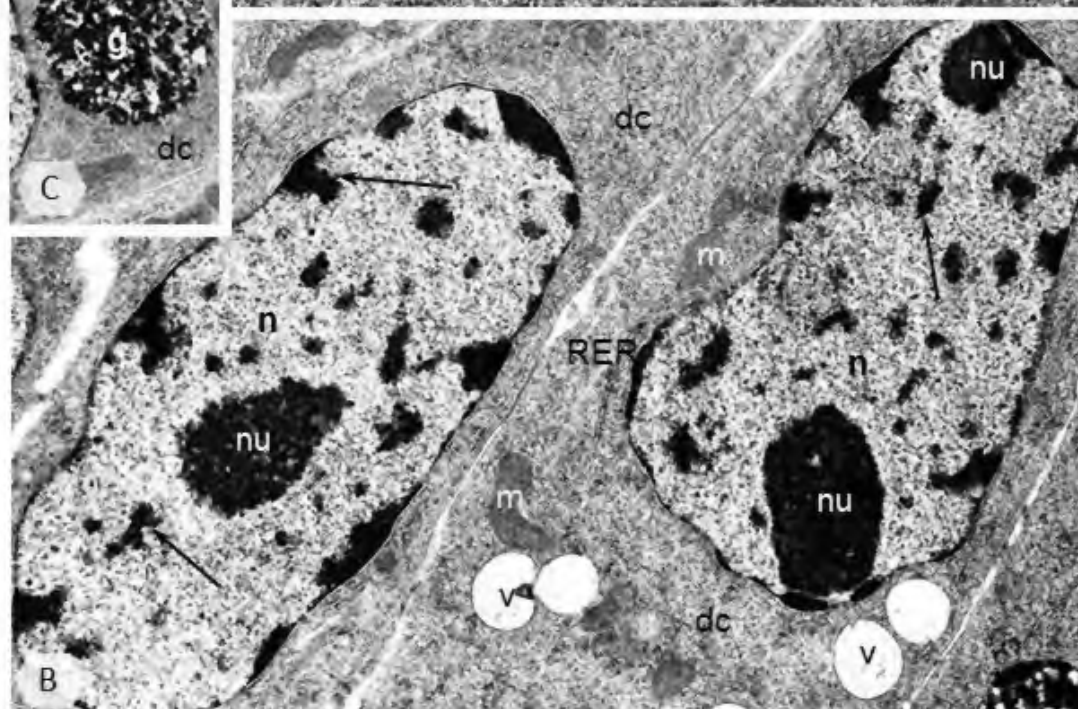
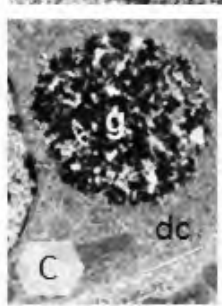
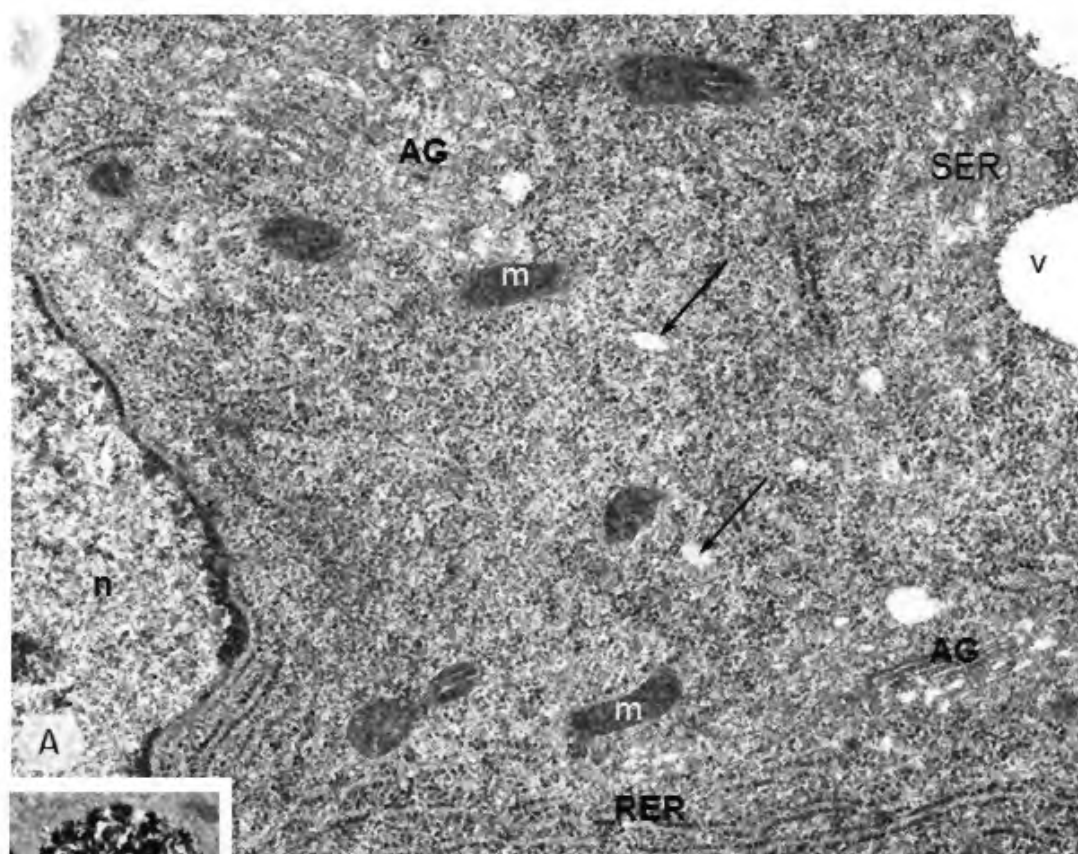
Fot. 39. Połączenia międzykomórkowych występujące w regionie bazalnym komórek trawiennych *Julus scandinavicus*.

- A.** Połączenie typu neksus (\rightarrow). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 86 200.
- B.** Desmosom punktowy (\rightarrow). Komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 77 400.



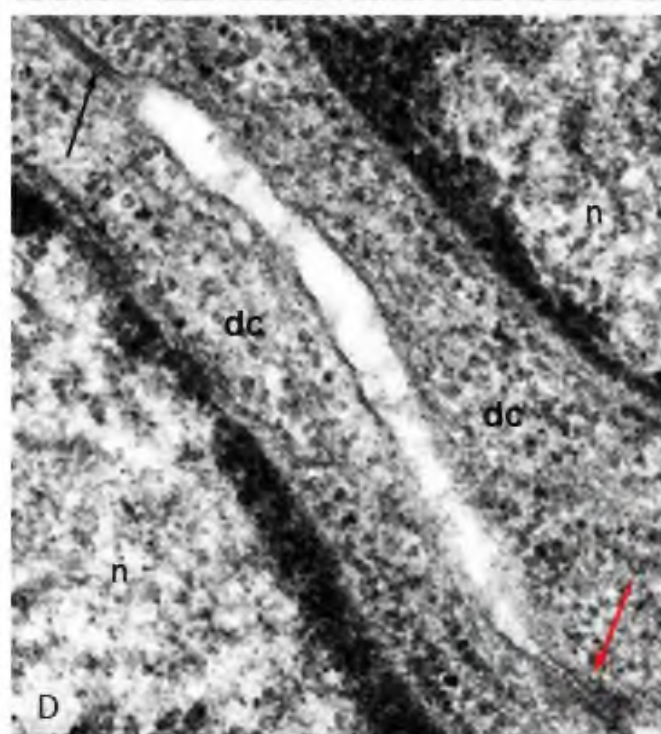
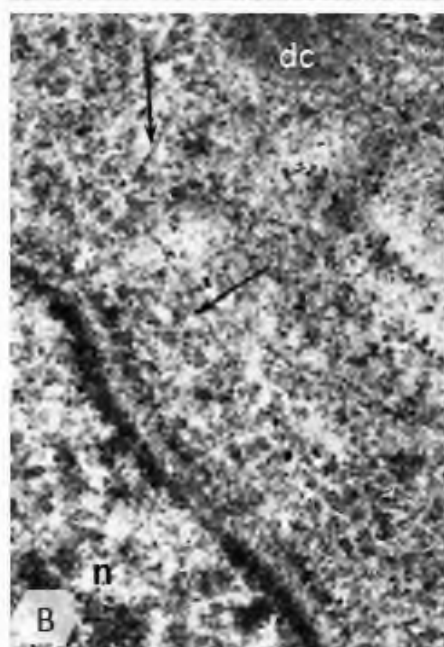
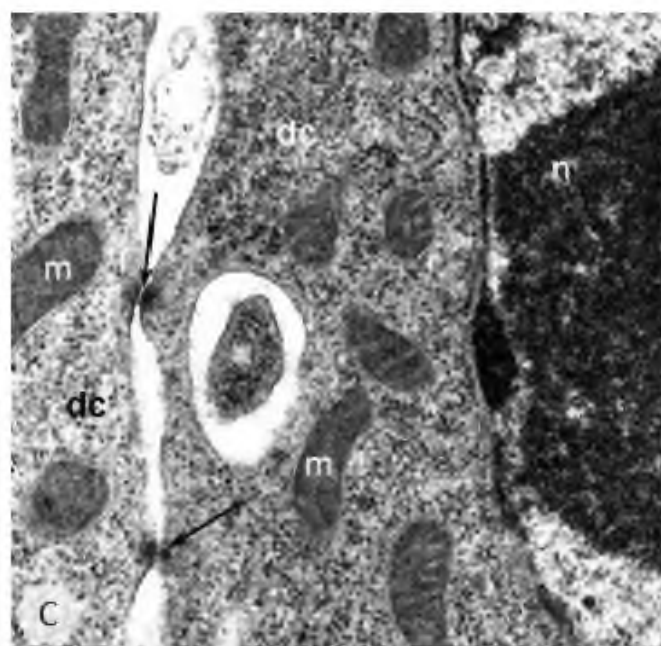
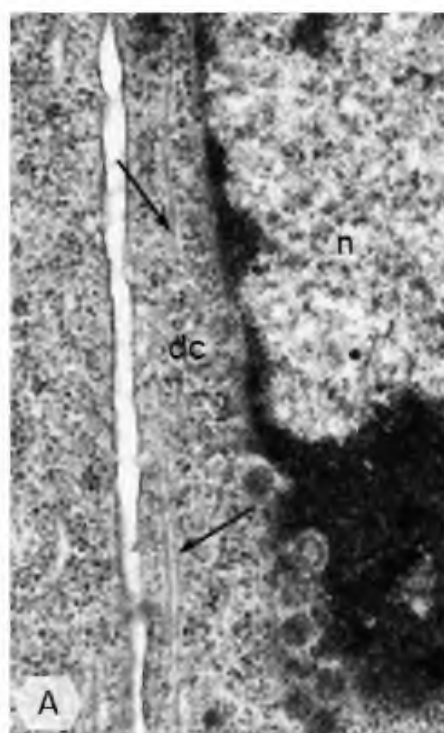
Fot. 40. Ultrastruktura regionu okołojądrowego cytoplazmy komórek trawiennych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A.** Organelle komórkowe występujące w cytoplazmie regionu okołojądrowego komórki trawiennej. Aparat Golgiego (**AG**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (\rightarrow), wakuole (**v**). TEM, pow. x 39 200.
- B.** Jądra komórkowe (**n**) komórek trawiennych (**dc**) o wydłużonym, owalnym kształcie, posiadające duże jąderka (**nu**) i skupiska heterochromatyny (\rightarrow) równomiernie rozmieszczonej w nukleoplazmie. Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), mitochondria (**m**), wakuole (**v**). TEM, pow. x 15 300.
- C.** Granule (**g**) materiału zapasowego o heterogennym wnętrzu występujące w regionie okołojądrowym. Komórka trawienna (**dc**). TEM, pow. x 12 700.



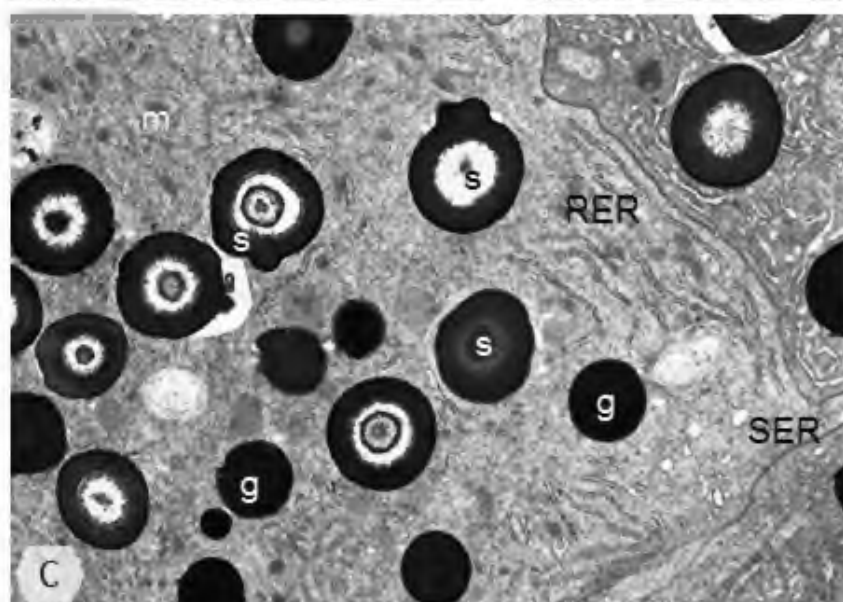
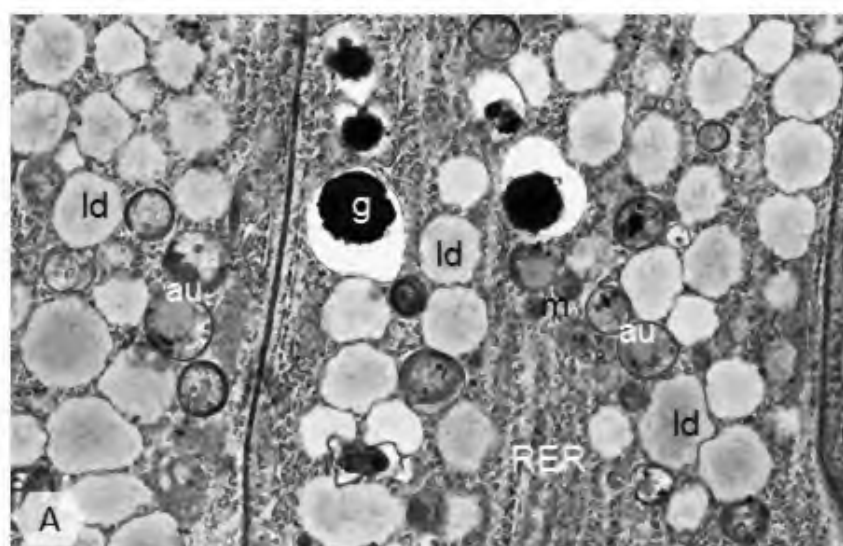
Fot. 41. Ultrastruktura regionu okołodrowego komórek trawiennych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavius*.

- A, B.** Elementy cytoszkieletu komórkowego (→) w regionie okołodrowym. Jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**). TEM, **A** – pow. x 46 200; **B** – pow. x 117 500.
- C.** Desmosomy punktowe (→) występujące w regionie okołodrowym komórek trawiennych. Jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 43 100.
- D.** Połączenie typu neksus (**czarna** →) i połączenie przegrodowe (**czzerwona** →) w regionie okołodrowym komórek trawiennych (**dc**). Jądro komórkowe (**n**). TEM, pow. x 96 400.



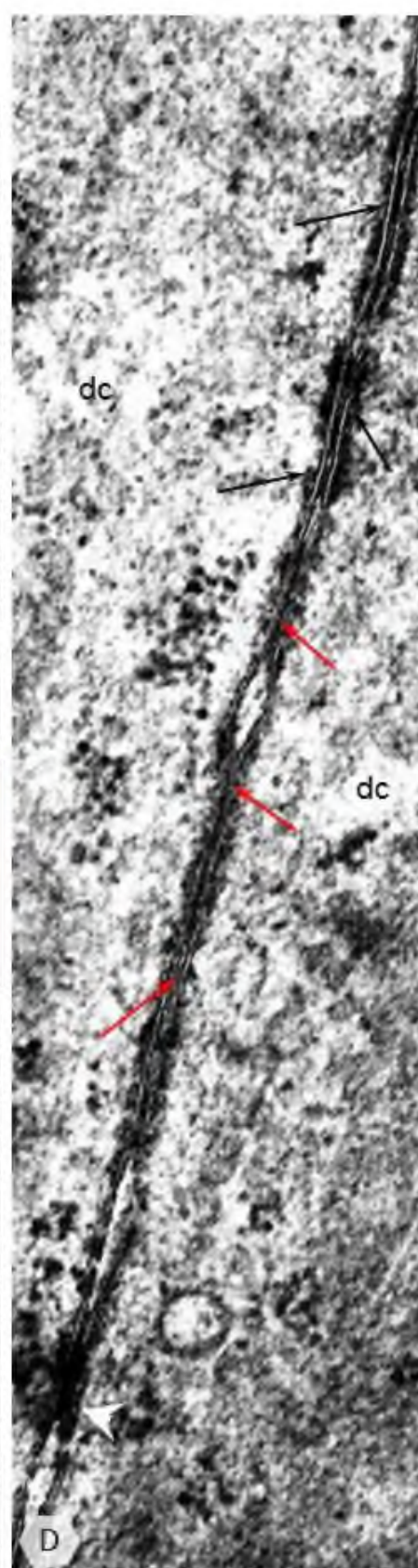
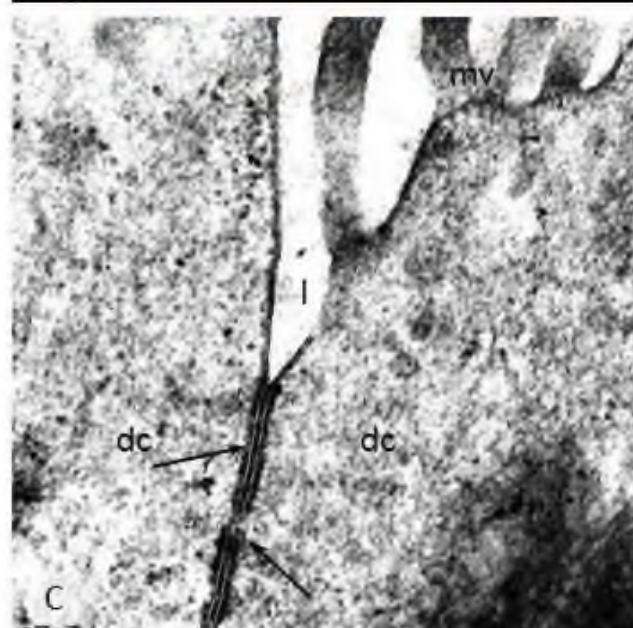
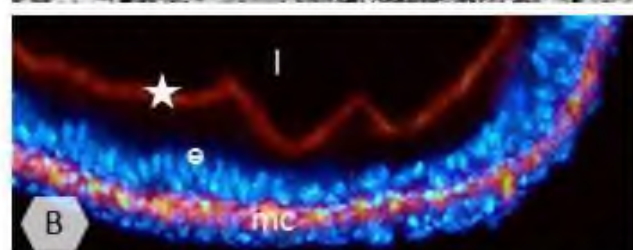
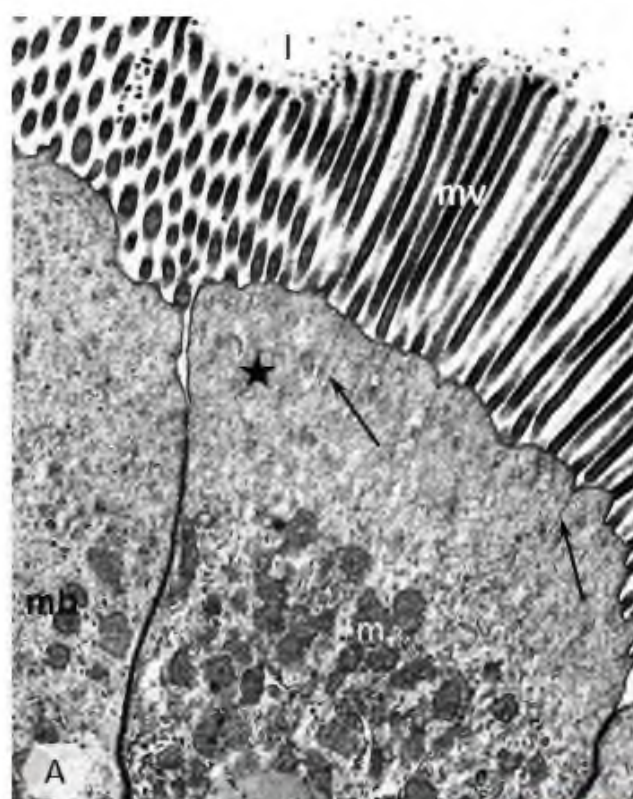
Fot. 42. Ultrastruktura regionu apikalnego cytoplazmy komórek trawiennych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A.** Skupiska licznych kul materiału pomiędzy organellami komórkowymi. Autofagosomy (**au**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), granule (**g**), krople lipidowe (**ld**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 17 500.
- B.** Powstające sferyty (**s**) w regionie apikalnym komórki trawiennej. Aparat Golgiego (**AG**), autofagosomy (**au**), ciało lamellarne (**lb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 21 800.
- C.** Ukształtowane sferyty (**s**) o koncentrycznym wnętrzu w cytoplazmie apikalnej komórek trawiennych. Cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), granule (**g**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 12 400.



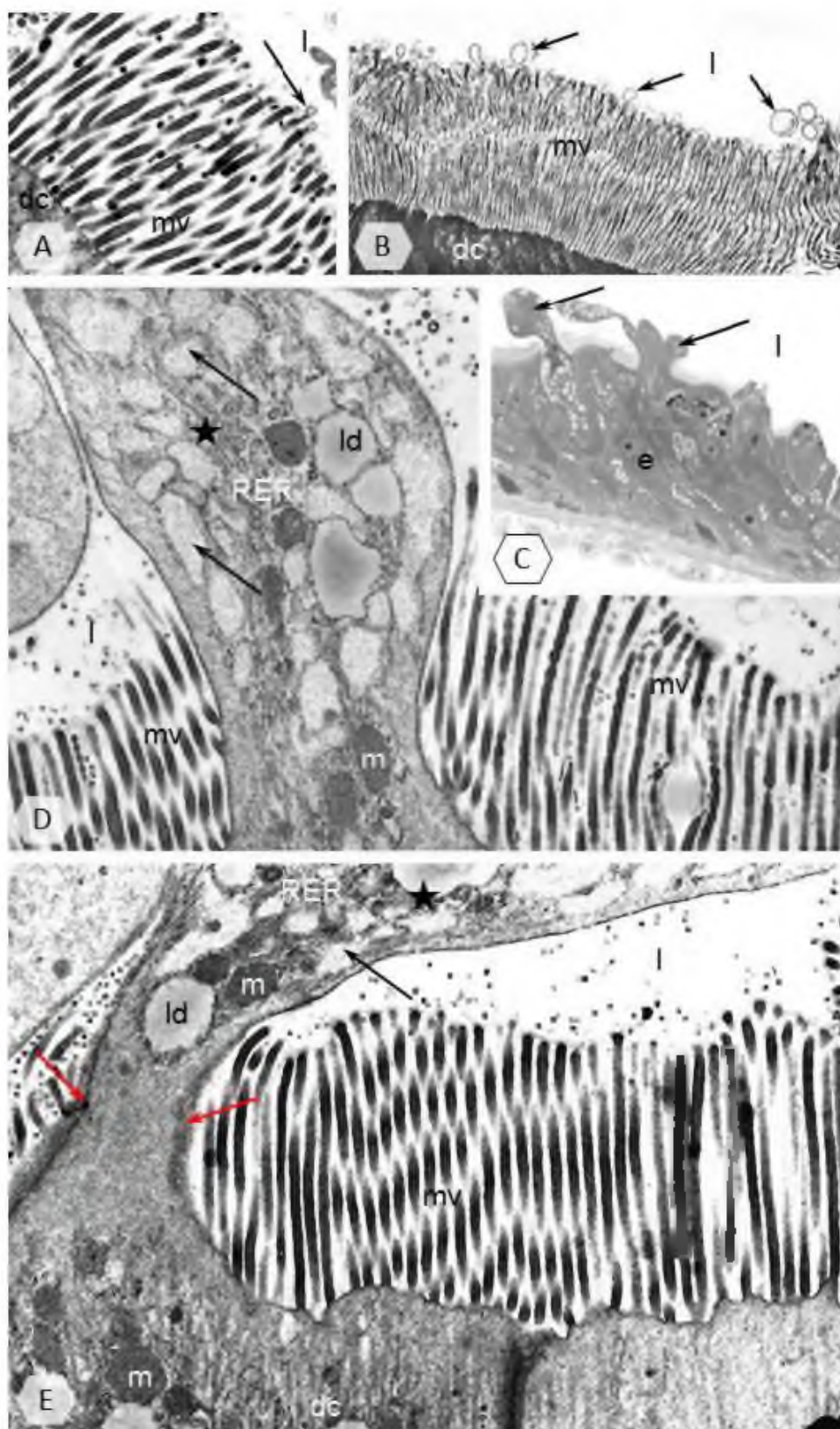
Fot. 43. Ultrastruktura regionu apikalnego komórek trawiennych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavus*.

- A.** Szczytowe części regionu apikalnego komórek trawiennych z widocznymi długimi mikrokosmkami (**mv**) i warstwą korową (**★**), w której zanurzone są korzenie mikrokosmków (**→**). Ciało wielopęcherzykowe (**mb**), mitochondria (**m**), światło jelita (**l**). TEM, pow. x 18 000.
- B.** Lokalizacja cytoszkieletu aktynowego (**kolor czerwony**) w nabłonku jelita środkowego przy użyciu kompleksu rodmaina-falloidyna. Jądra komórkowe (**kolor niebieski**) wybarwiono odczynnikami DAPI. Mikrokosmki i warstwa korowa (**★**). Mięśnie wisceralne (**mc**), nabłonek jelita środkowego (**e**), światło jelita (**l**). FM, barwienie rodaminą sprzężoną z falloidyną i odczynnikami DAPI, pow. x 240.
- C.** Gładkie połączenie przegrodowe (**→**) występujące w szczytowych częściach lateralnych błon komórkowych komórek trawiennych. Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**), światło jelita (**l**). TEM, pow. x 60 100.
- D.** Połączenia międzykomórkowe występujące w regionie apikalnym komórek trawiennych (**dc**): gładkie połączenie przegrodowe (**czarne →**), strefa zamykająca (**czerwone →**), desmosom punktowy (**➤**). TEM, pow. x 114 300.



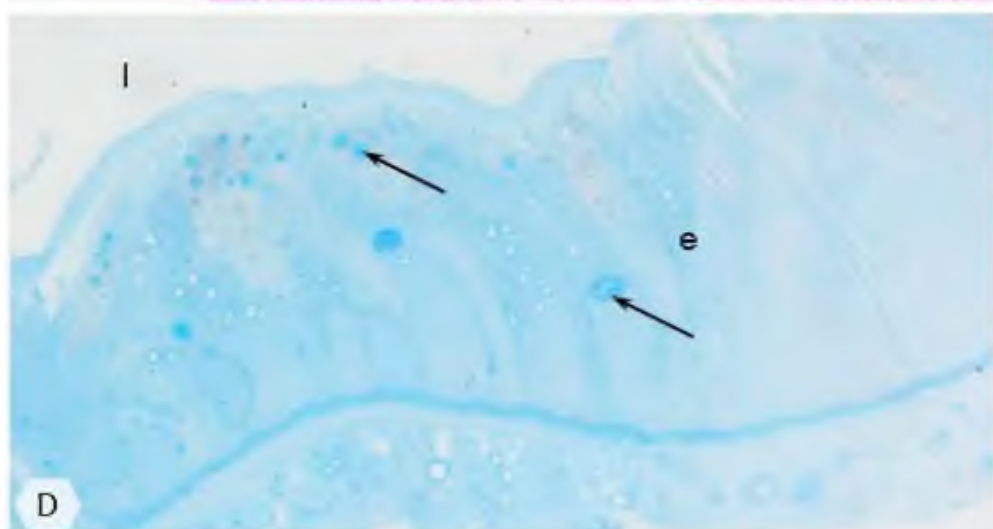
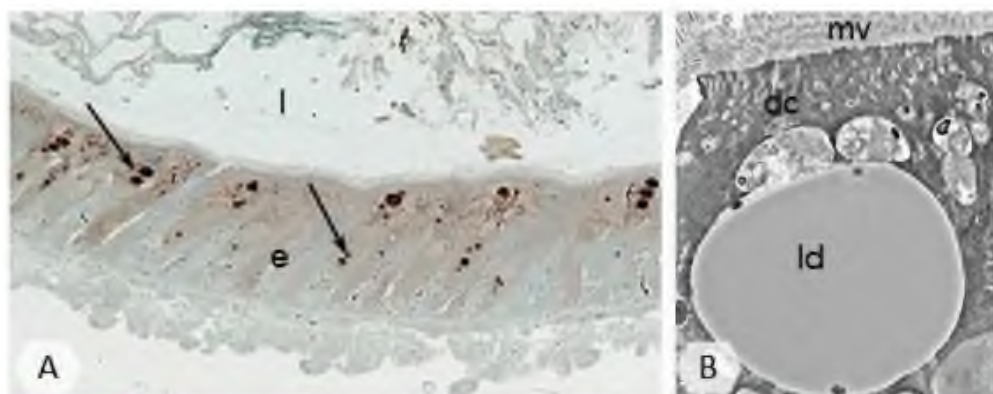
Fot. 44. Typy wydzielania w komórkach trawiennych nabłonka jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A, B.** Wydzielanie mikroapokrynowe. Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**), pęcherzyki sekrecyjne (\rightarrow), światło jelita (**l**). TEM, **A** – pow. x 16 200; **B** – pow. x 10 000.
- C.** Wydzielanie apokrynowe (\rightarrow) w nabłonku jelita środkowego (**e**). Światło jelita (**l**). LM, barwienie błękitem metylenowym, pow. x 420.
- D.** Wydzielanie apokrynowe. Uwypuklenie błony apikalnej (**★**) do światła jelita (**l**). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), krople lipidowe (**ld**), mikrokosmki (**mv**), mitochondria (**m**), pęcherzyki (\rightarrow). TEM pow. x 19 000.
- E.** Wydzielanie apokrynowe. Zawężanie się pasa cytoplazmy (**czerwone** \rightarrow) łączącego uwypuklenie (**★**) z komórką trawienną (**dc**). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), krople lipidowe (**ld**), mikrokosmki (**mv**), mitochondria (**m**), pęcherzyki (**czarna** \rightarrow). TEM, pow. x 20 500.



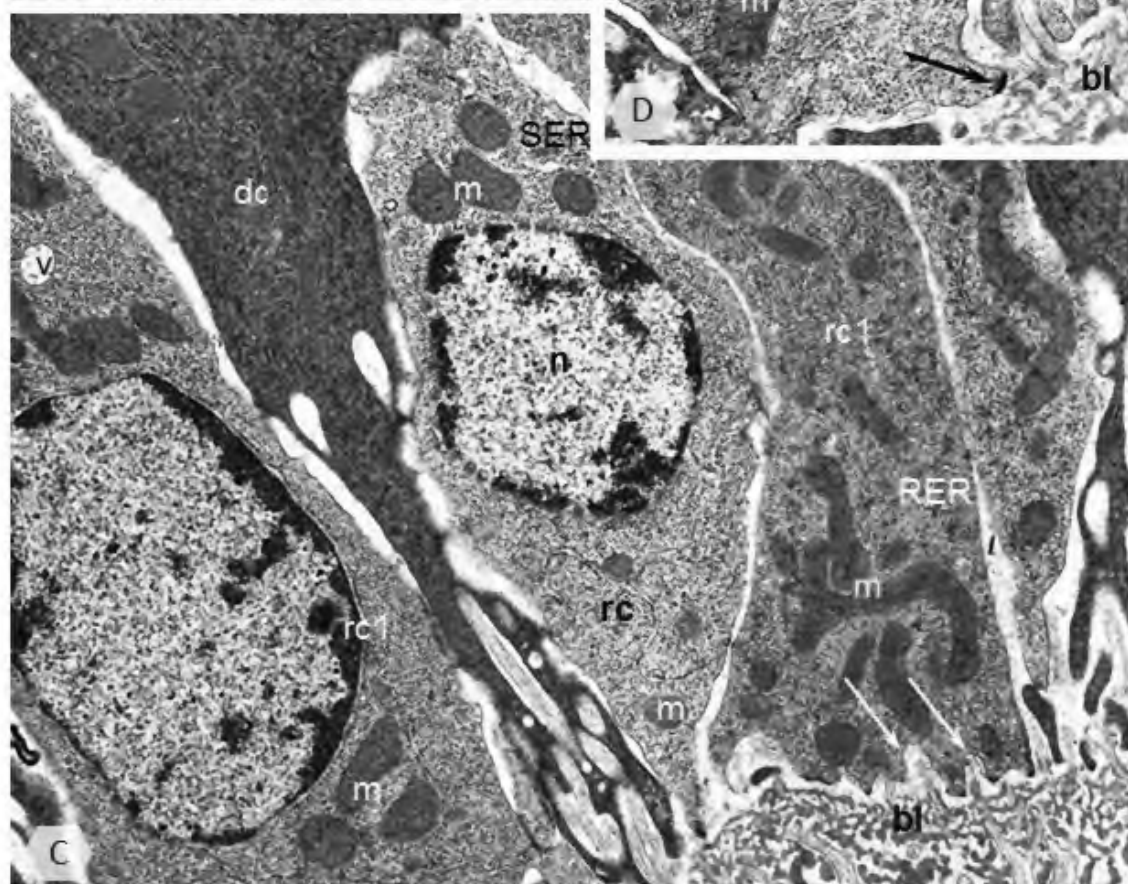
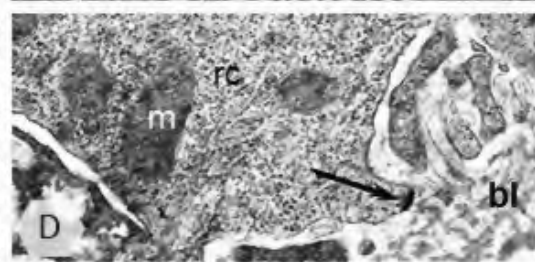
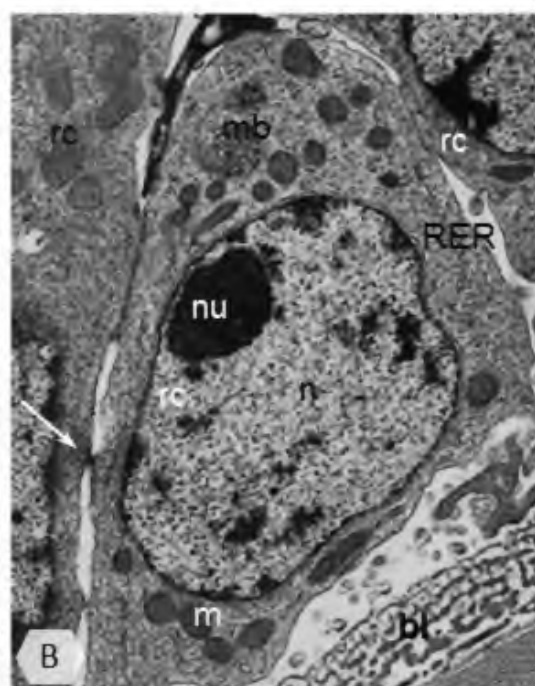
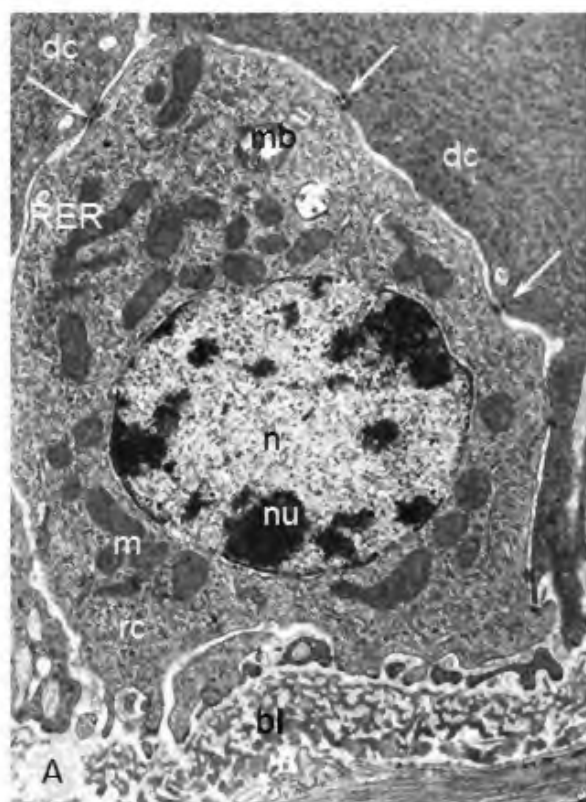
Fot. 45. Lokalizacja materiałów zapasowych występujących na terenie komórek trawiennych nabłonka jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A.** Lokalizacja materiałów o charakterze lipidowym (→) (*kolor ciemnobrunatny*) w nabłonku jelita środkowego (**e**). Światło jelita (**I**). LM, barwienie Sudanem czarnym B, pow. x 320.
- B.** Duże krople lipidowe (**ld**) występujące w regionie apikalnym niektórych komórek trawiennych (**dc**). Mikrokosmki (**mv**). TEM, pow. x 4 450.
- C.** Lokalizacja polisacharydów (→) (*kolor malinowo-czerwony*) w nabłonku jelita środkowego (**e**). Światło jelita (**I**). LM, reakcja PAS, pow. x 810.
- D.** Lokalizacja białek (→) (*kolor niebieski*) w nabłonku jelita środkowego (**e**). Światło jelita (**I**). LM, barwienie błękitem rtęciowo-bromofenolowym, pow. x 670.



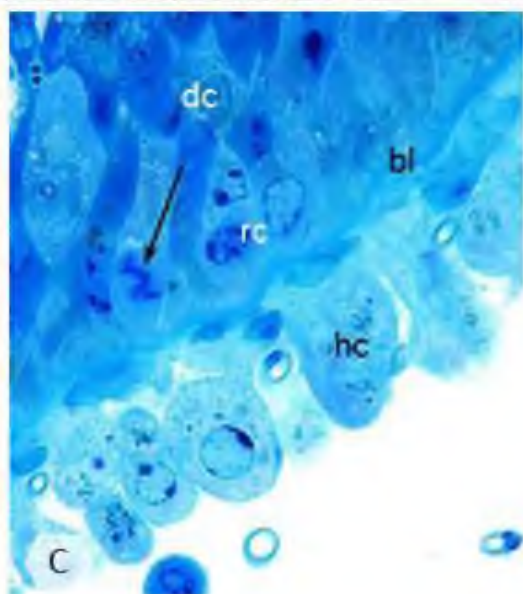
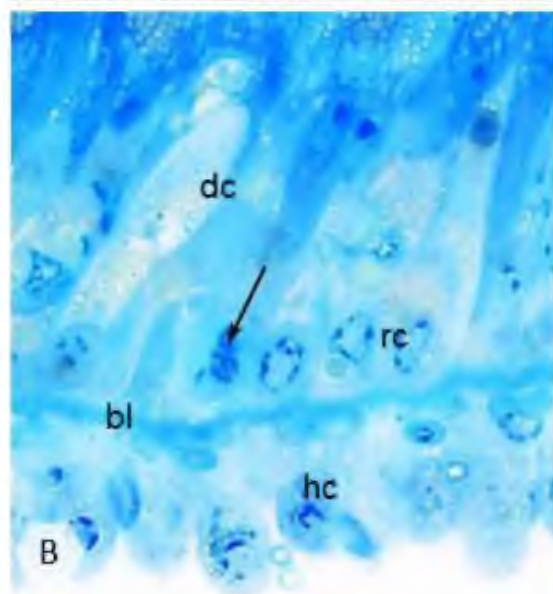
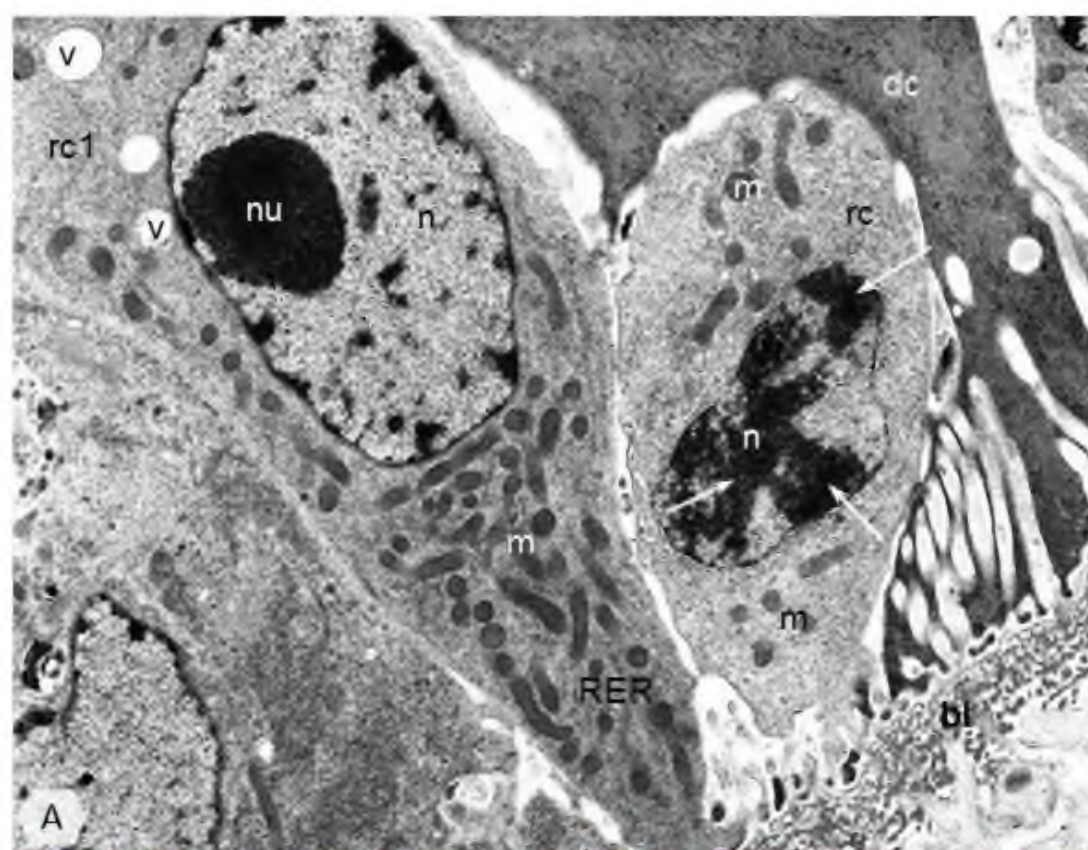
Fot. 46. Ultrastruktura komórek regeneracyjnych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A, B.** Komórki regeneracyjne (**rc**) z ubogą w organelle komórkowe cytoplazmą umiejscowione blisko błony podstawnej (**bl**). Ciała wielopęcherzykowe (**mb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), desmosomy punktowe (\rightarrow), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM, **A** – pow. x 14 300; **B** – pow. x 15 700.
- C.** Komórka regeneracyjna (**rc**) w bliskim sąsiedztwie komórek różnicujących się (**rc1**). Błona podstawna (**bl**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), wakuola (**v**), wpuklenia błony bazalnej (\rightarrow). TEM, pow. x 18 600.
- D.** Hemidesmosom (\rightarrow) łączący komórkę regeneracyjną (**rc**) z błoną podstawną (**bl**); mitochondria (**m**). TEM, pow. x 25 600.

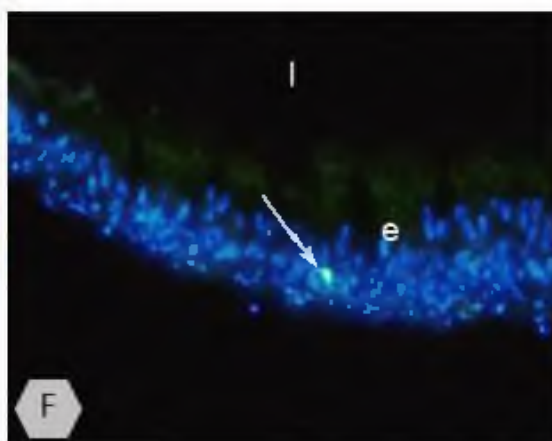
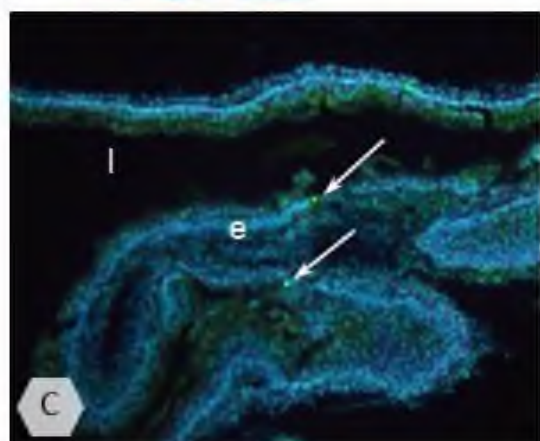
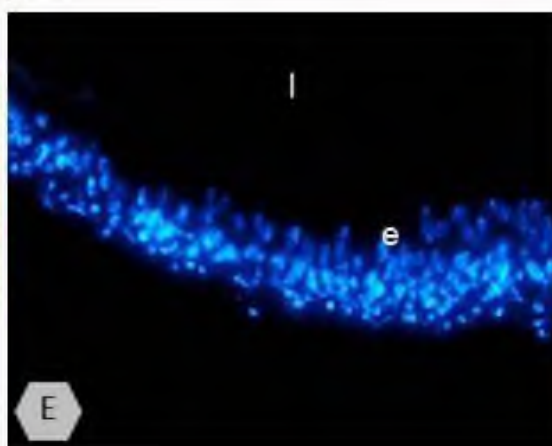
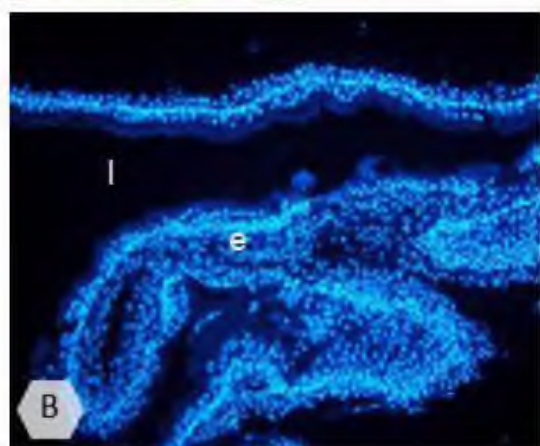
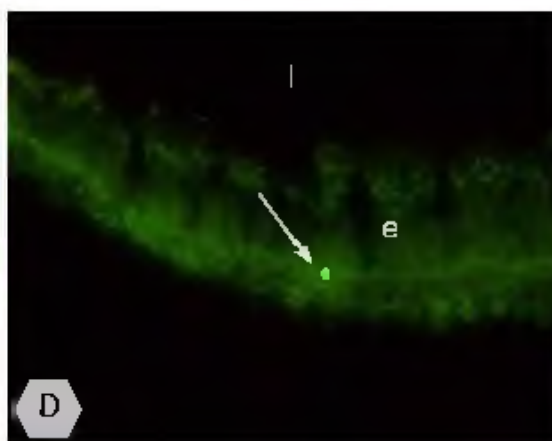
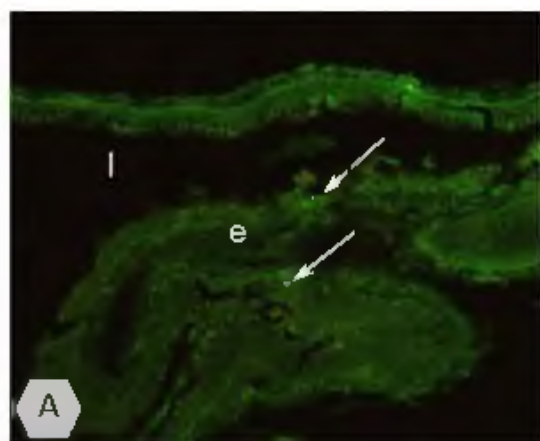


Fot. 47. Podziały mitotyczne komórek regeneracyjnych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavius*.

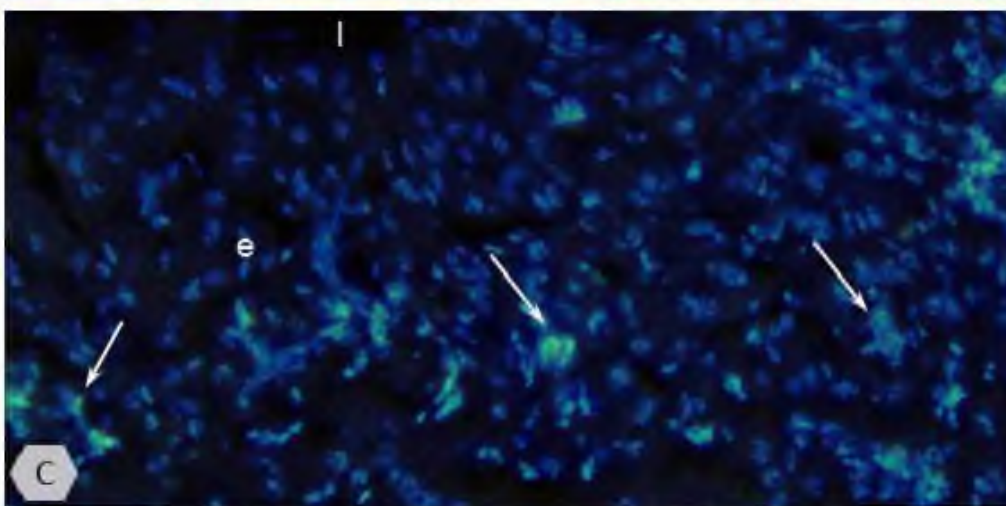
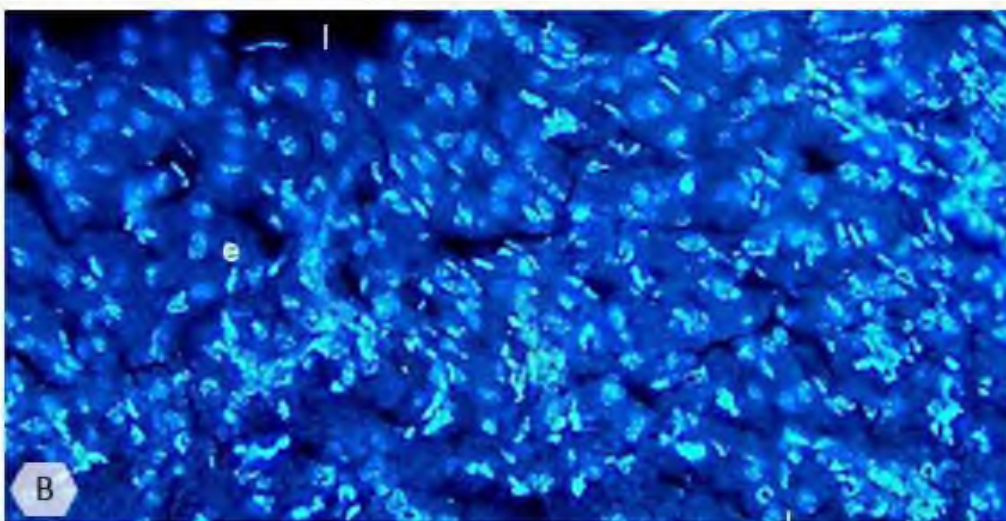
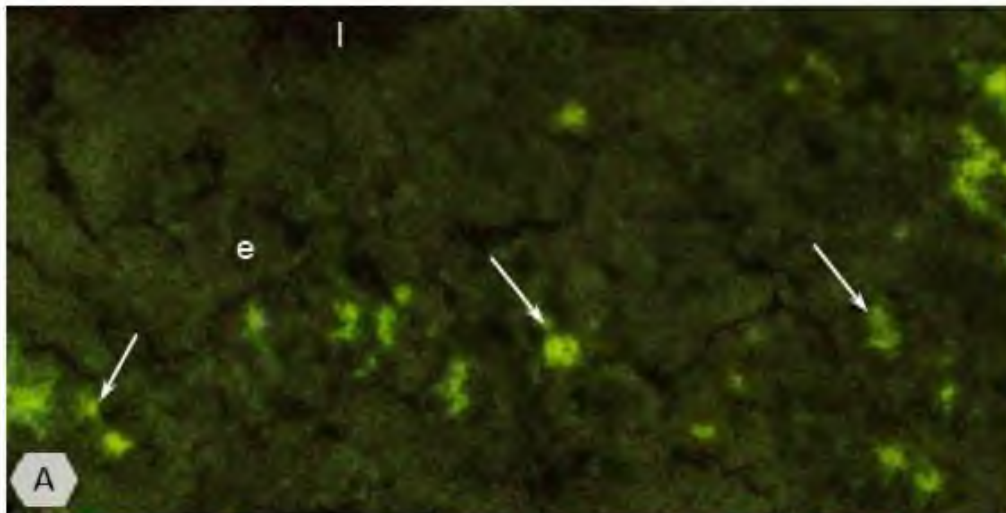
- A.** Komórka regeneracyjna (**rc**) w początkowej fazie podziału ze skondensowaną chromatyną jądrową (→). Błona podstawna (**bl**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), komórka różnicująca się (**rc1**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), wakuole (**v**). TEM, pow. x 15 700.
- B, C.** Lokalizacja płytki metafazowej (→) w nabłonku jelita środkowego. Błona podstawna (**bl**), komórki regeneracyjne (**rc**), komórki trawienne (**dc**), komórki wątrobowe (**hc**). LM, barwienie błękitem metylenowym; **B** – pow. x 1 000; **C** – pow. x 960.



Fot. 48A-F. Detekcja komórek regeneracyjnych (→) w nabłonku jelita środkowego (**e**) *Julus scandinavicus* z użyciem przeciwciał skierowanych przeciwko ufosforylowanej postaci histonu H3 (**kolor zielony**). Jądra komórkowe (**kolor niebieski**) wybarwione odczynnikiem DAPI. Światło jelita (**I**). FM, **A-C** – pow. x 70; **D-F** – pow. x 320.

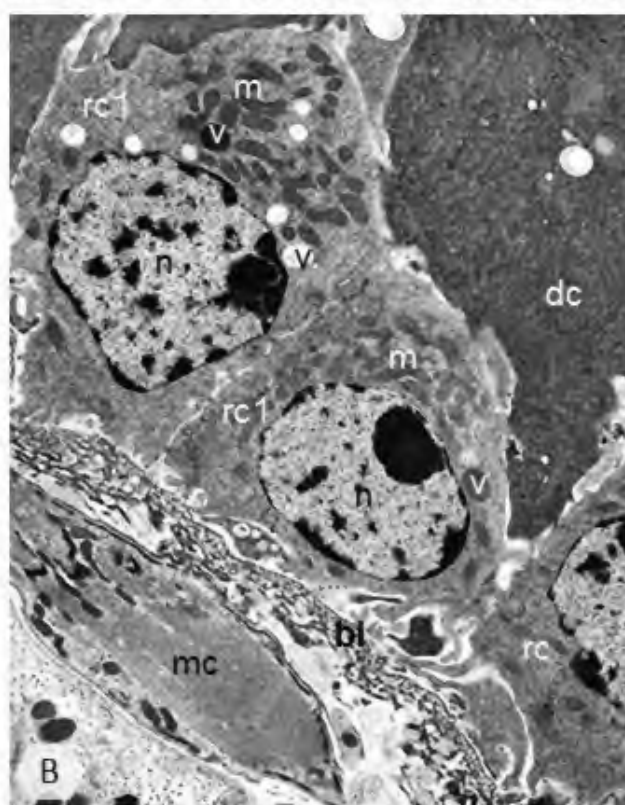
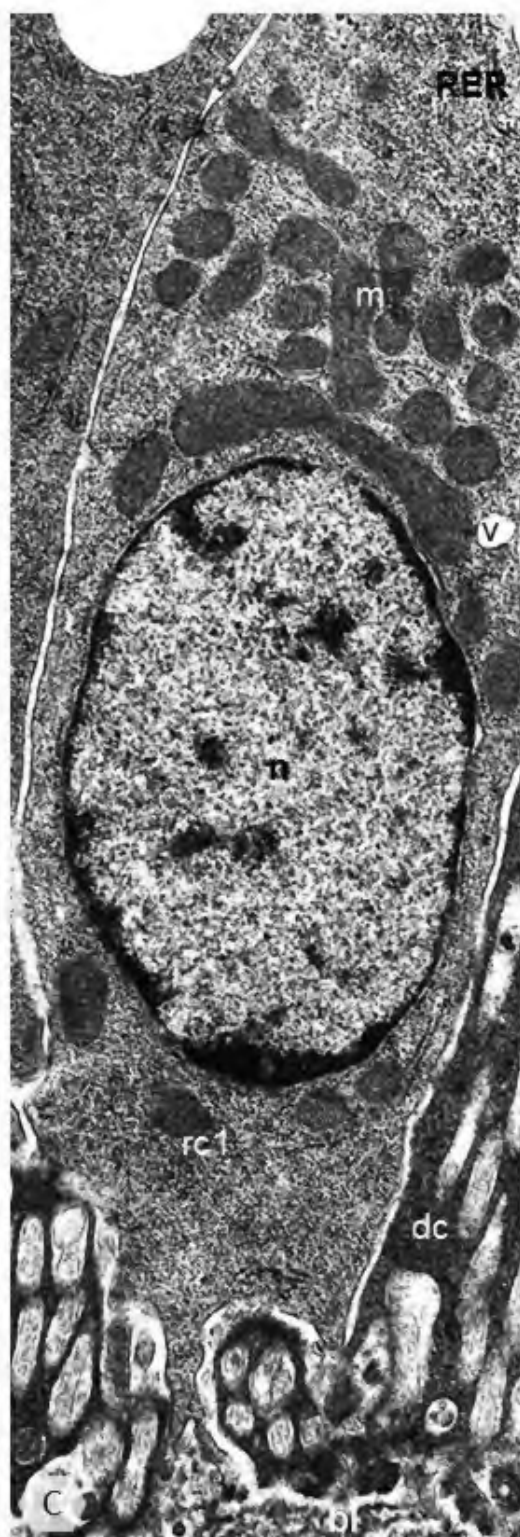


Fot. 49A-C. Detekcja proliferujących komórek regeneracyjnych (→) w nabłonku jelita środkowego (**e**) *Julus scandinavicus* z użyciem bromodeoksyurydyny (**kolor zielony**). Jądra komórkowe (**kolor niebieski**) wybarwione odczynnikiem DAPI. Światło jelita (**I**). FM, **A-C** – pow. x 590.



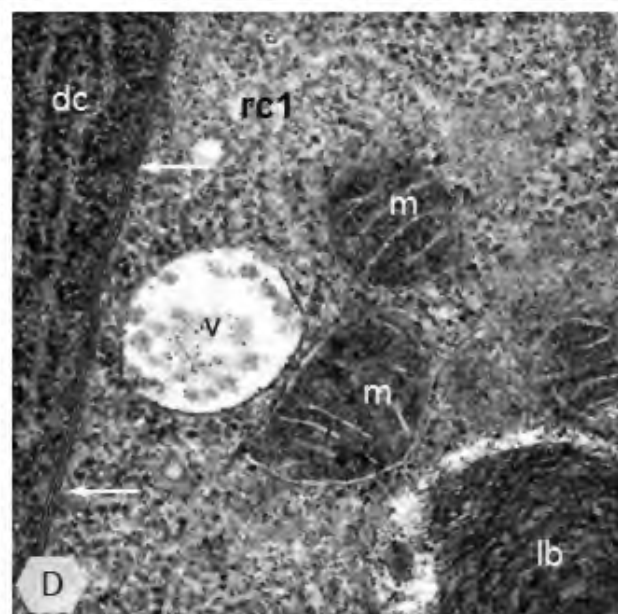
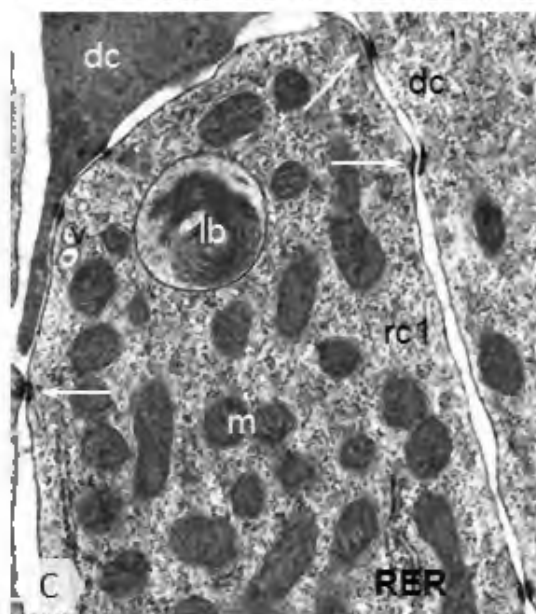
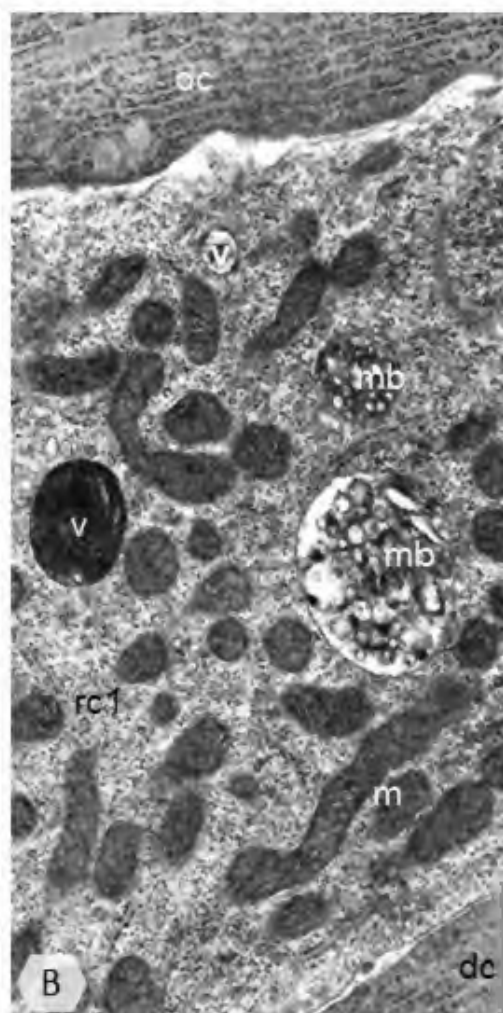
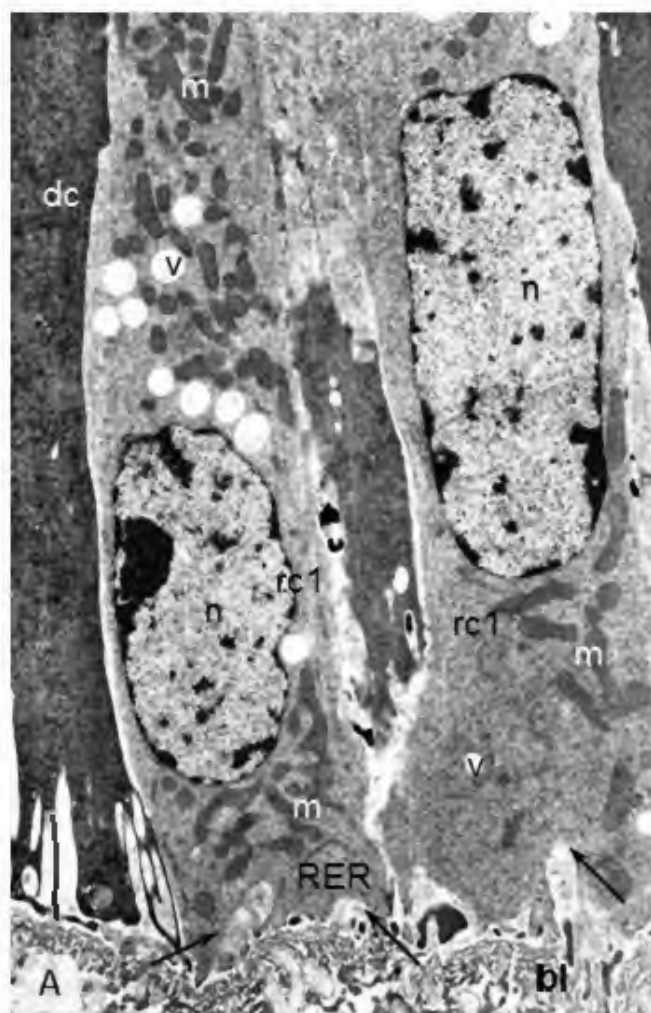
Fot. 50. Ultrastruktura komórek wchodzących na drogę różnicowania się w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavius*.

A-C. Wczesne etapy różnicowania się komórek potomnych (**rc1**) powstałych w wyniku podziałów mitotycznych komórek regeneracyjnych. Błona podstawna (**bl**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**). TEM; **A** – cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), mięśnie wisceralne (**mc**), pow. x 18 200; **B** – komórka regeneracyjna (**rc**), mięśnie wisceralne (**mc**), wakuole (**v**), pow. x 8 800; **C** – cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), wakuola (**v**), pow. x 23 600.



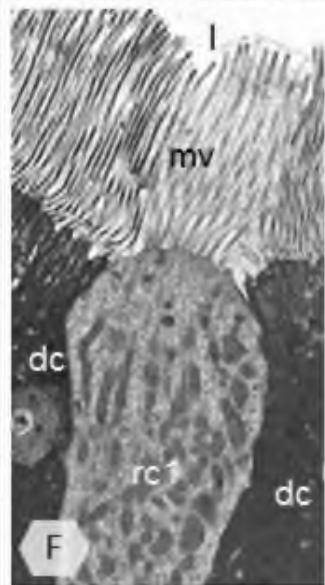
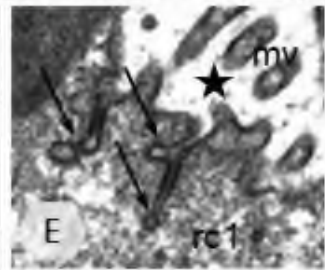
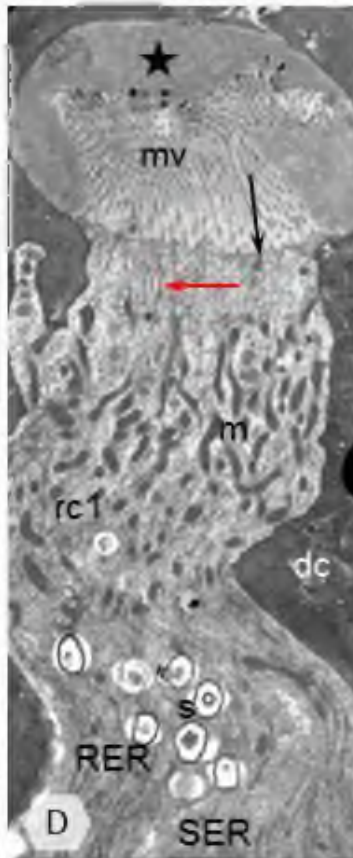
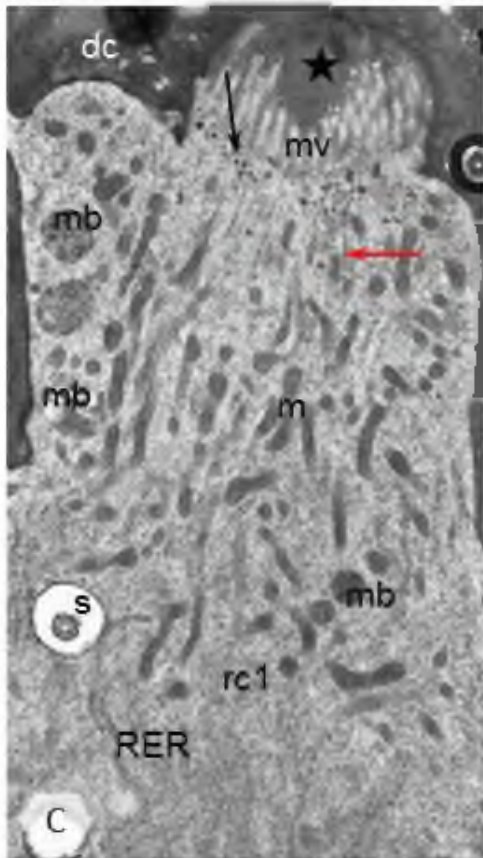
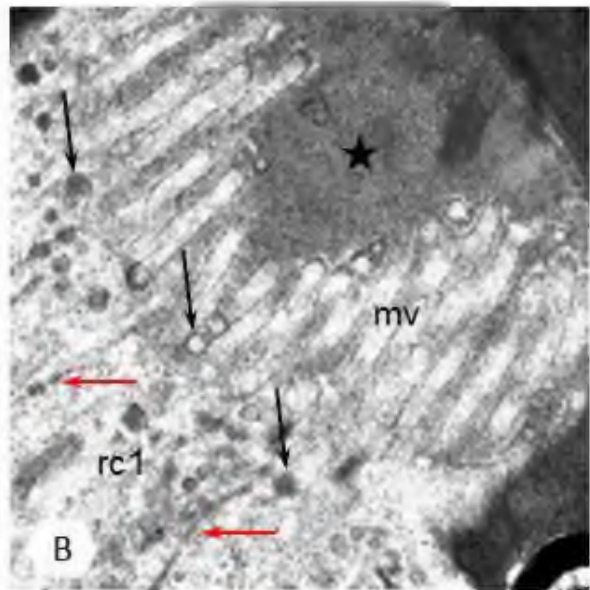
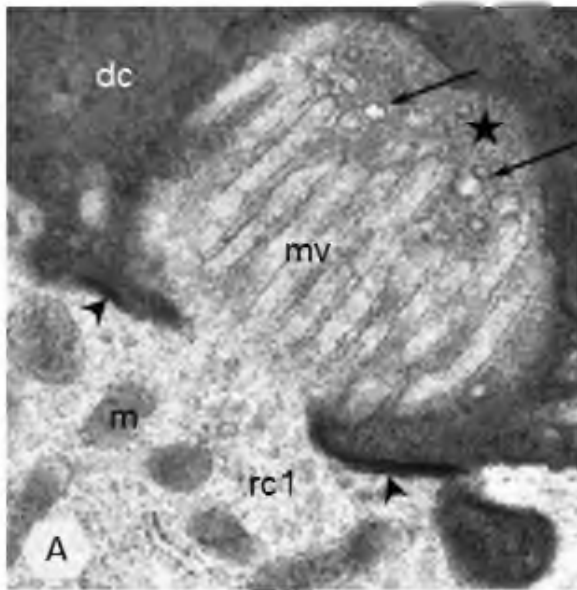
Fot. 51. Ultrastruktura komórek różnicujących się w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A.** Różnicujące się komórki (**rc1**) ulegające wydłużeniu w kierunku światła jelita. Błona podstawna (**bl**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), wakuole (**v**), wpuklenia błony bazalnej (→). TEM, pow. x 10 500.
- B.** Cytoplazma regionu apikalnego komórki różnicującej (**rc1**) wraz z licznymi organellami komórkowymi. Ciało wielopęcherzykowe (**mb**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), wakuola (**v**). TEM, pow. x 26 200.
- C.** Desmosomy punktowe (→) w apikalnej części komórki różnicującej się (**rc1**). Ciało lamellarne (**lb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), wakuola (**v**). TEM, pow. x 25 800.
- D.** Połączenie komunikacyjne typu neksus (→) pomiędzy komórką różnicującą się (**rc1**) a sąsiednią komórką trawienną (**dc**). Ciało lamellarne (**lb**), mitochondria (**m**), wakuola (**v**). TEM, pow. x 73 100.



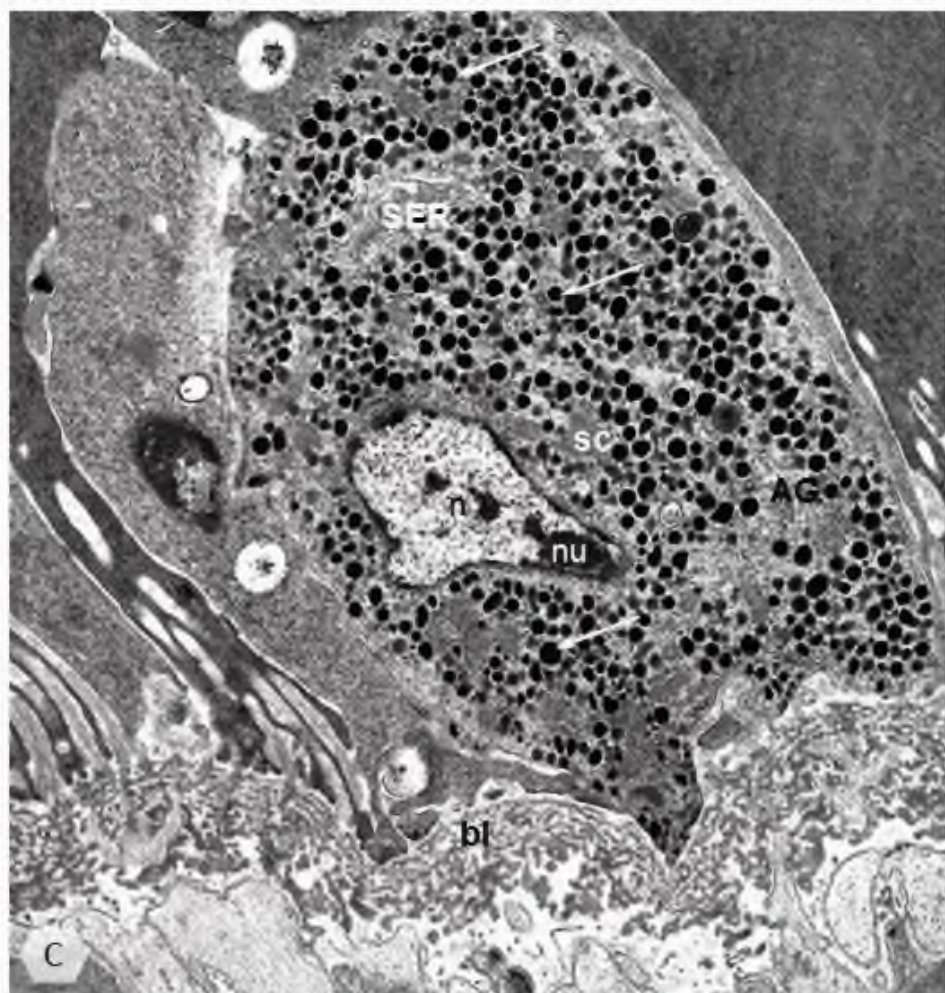
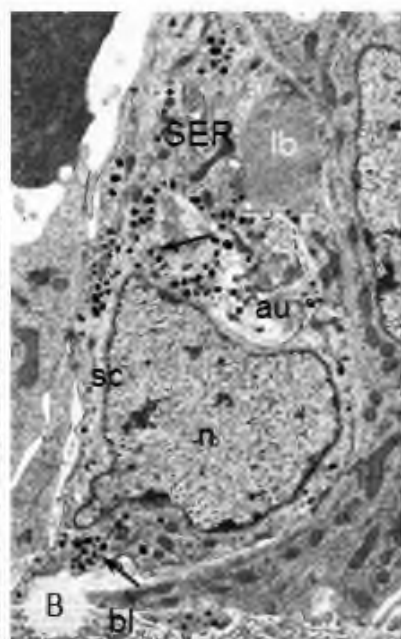
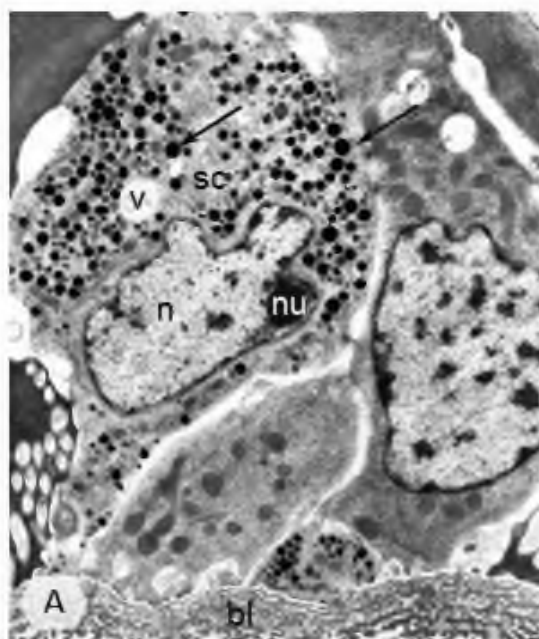
Fot. 52. Przebieg procesu różnicowania się komórki trawiennej w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A.** Powstające połączenia komórkowe (➤) w szczytowej części komórki różnicującej się (**rc1**) wraz zawiązkami mikrokosmków (**mv**). Komórka trawienna (**dc**), mitochondria (**m**), pęcherzyki (→), przestrzeń zewnątrzkomórkowa (★). TEM, pow. x 41 500.
- B.** Liczne pęcherzyki (**czarne** →) o różnej gęstości elektronowej występujące pod błoną apikalną komórki różnicującej się (**rc1**) umożliwiające wzrost mikrokosmków (**mv**) i powiększanie się przestrzeni zewnątrzkomórkowej (★). Elementy cytoszkieletu (**czerwone** →). TEM, pow. x 38 400.
- C, D.** Pojawiająca się regionalizacja w rozmieszczeniu organelli komórkowych w komórce różnicującej się (**rc1**). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), elementy cytoszkieletu (**czerwona** →), komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**), mitochondria (**m**), pęcherzyki (**czarna** →), przestrzeń zewnątrzkomórkowa (★), sferyty (**s**). TEM, **C** – ciała wielopęcherzykowe (**mb**), pow. x 15 100; **D** – cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), pow. x 10 000.
- E.** Fuzja pęcherzyków z błoną apikalną komórki różnicującej się (→). Komórka różnicująca się (**rc1**), mikrokosmki (**mv**), przestrzeń zewnątrzkomórkowa (★). TEM, pow. x 24 300.
- F.** Komórka różnicująca się (**rc1**) uzyskująca kontakt ze światłem jelita (**l**). Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**). TEM, pow. x 11 700.



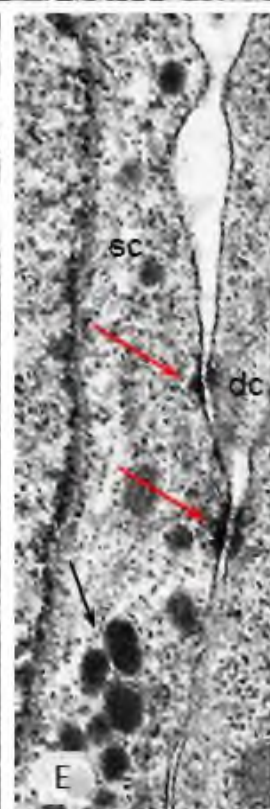
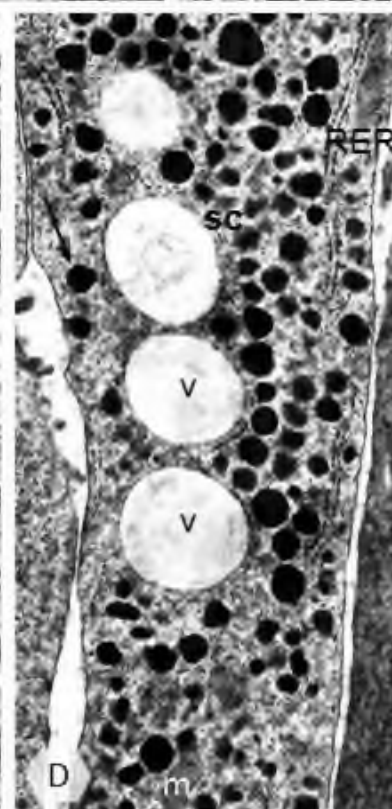
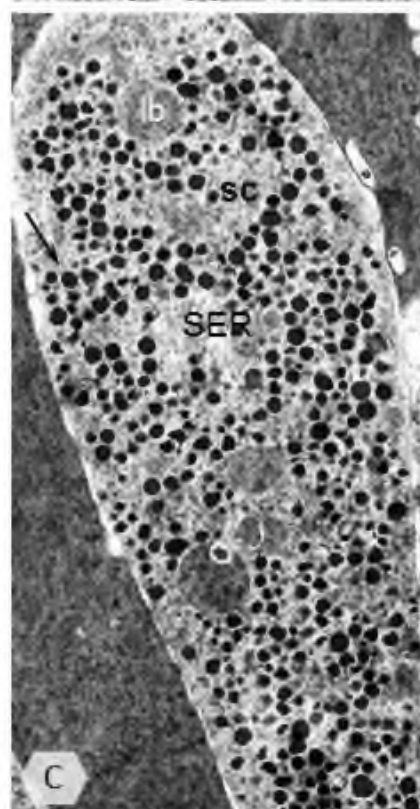
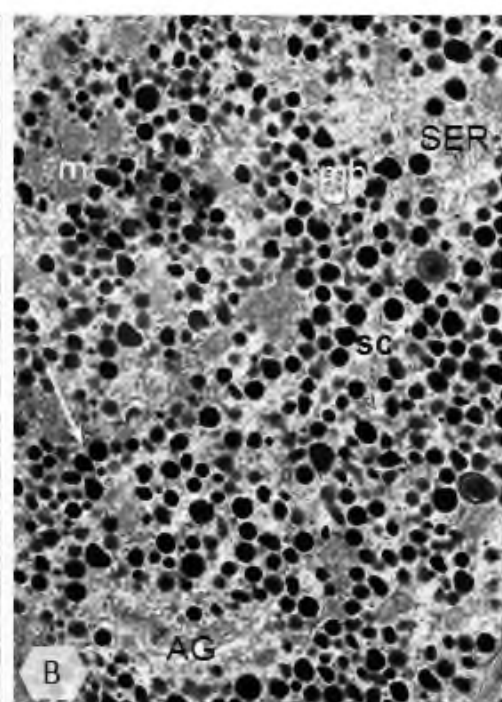
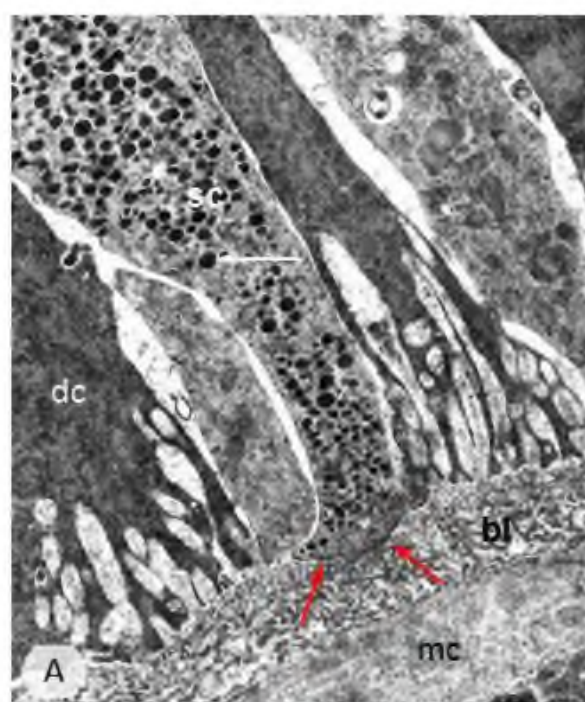
Fot. 53. Morfologia komórek wydzielniczych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A.** Komórka wydzielnicza (**sc**) maczugowatego kształtu. Błona podstawna (**bl**), granule (→), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), wakuola (**v**). TEM, pow. x 12 200.
- B.** Komórka wydzielnicza (**sc**) nieregularnego kształtu. Autofagosom (**au**), ciało lamellarne (**lb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), błona podstawna (**bl**), granule (→), jądro komórkowe (**n**). TEM, pow. x 11 000.
- C.** Komórka wydzielnicza (**sc**) owalnego kształtu. Aparat Golgiego (**AG**), błona podstawna (**bl**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), granule (→), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**). TEM, pow. x 15 000.



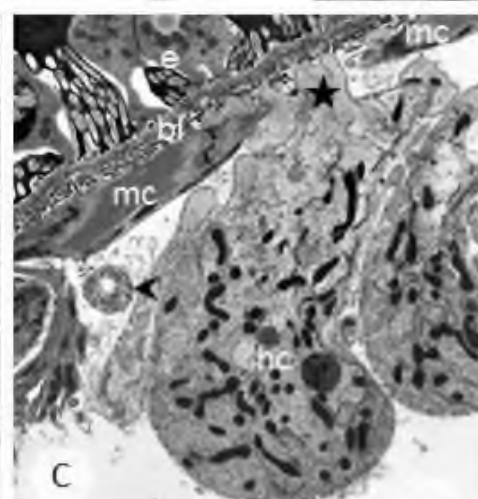
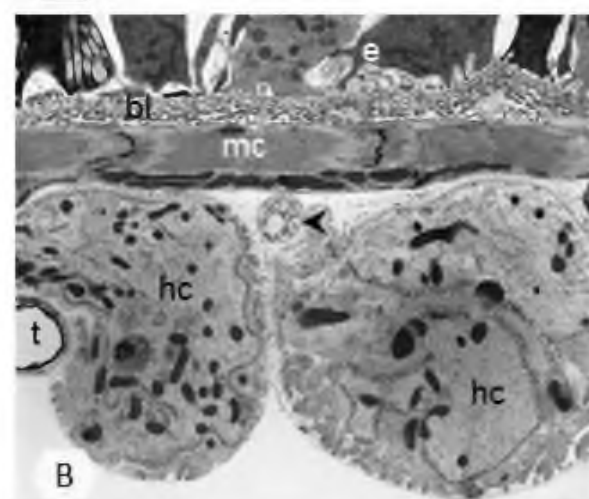
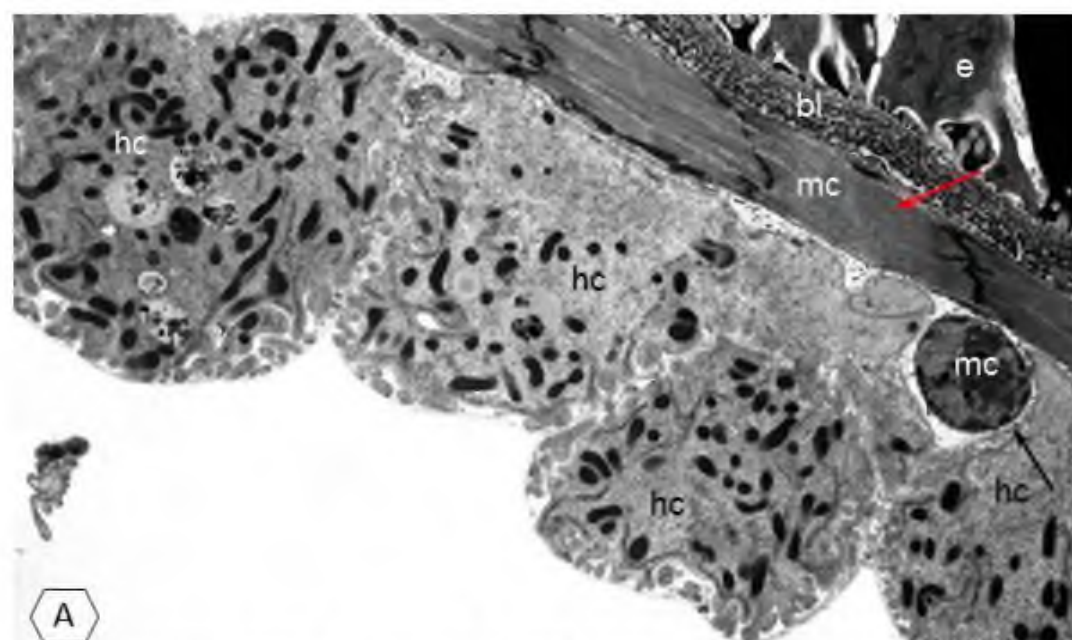
Fot. 54. Ultrastruktura komórek wydzielniczych w nabłonku jelita środkowego *Julus scandinavicus*.

- A.** Kontakt komórki wydzielniczej (**sc**) z błoną podstawną (**bl**); błona bazalna komórki (**czerwone** →) bez głębokich wpukleń. Granule (**biała** →), komórka trawienna (**dc**), mięśnie wisceralne (**mc**). TEM, pow. x 11 800.
- B-D.** Cytoplazma komórki wydzielniczej (**sc**) wraz z równomiernie w niej rozmieszczonymi organellami komórkowymi. Granule (→). TEM; **B** – aparat Golgiego (**AG**), ciało wielopęcherzykowe (**mb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), mitochondria (**m**), pow. x 15 800; **C** – ciało lamellarne (**lb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), pow. x 13 400; **D** – cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), wakuole (**v**), pow. x 28 600.
- E.** Desmosomy punktowe (**czerwone** →) łączące komórkę wydzielniczą (**sc**) z komórką trawienną (**dc**). Granule (**czarna** →). TEM, pow. x 62 100.



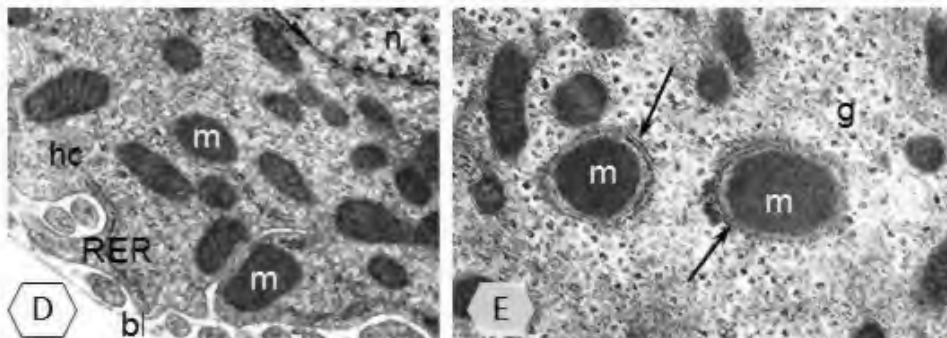
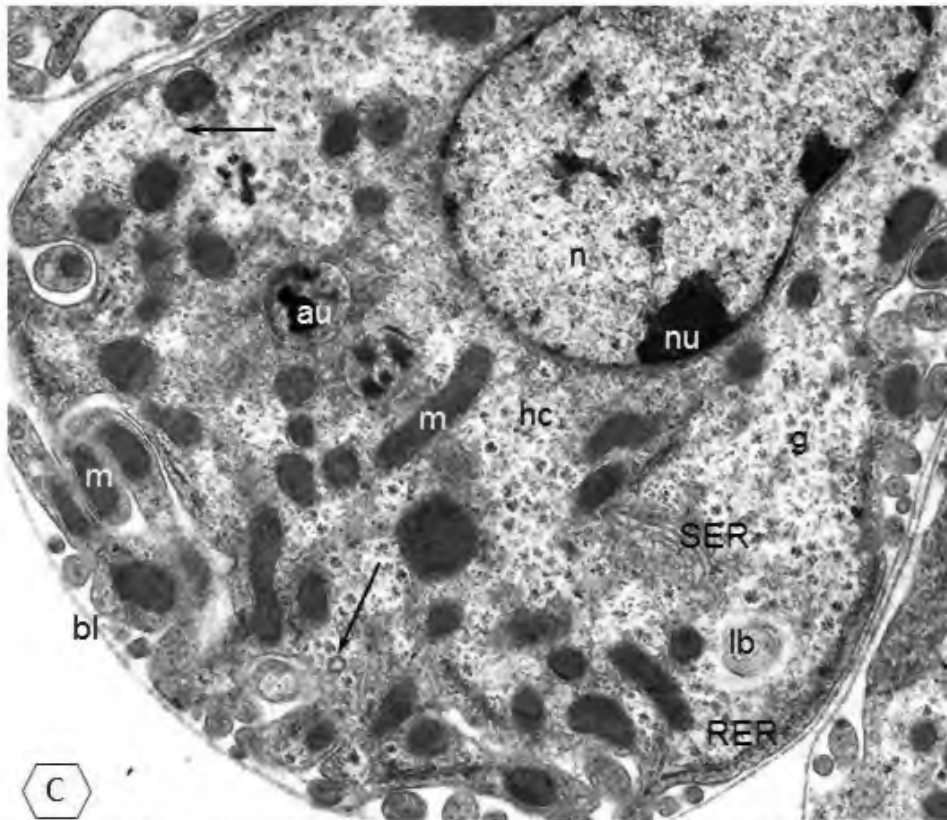
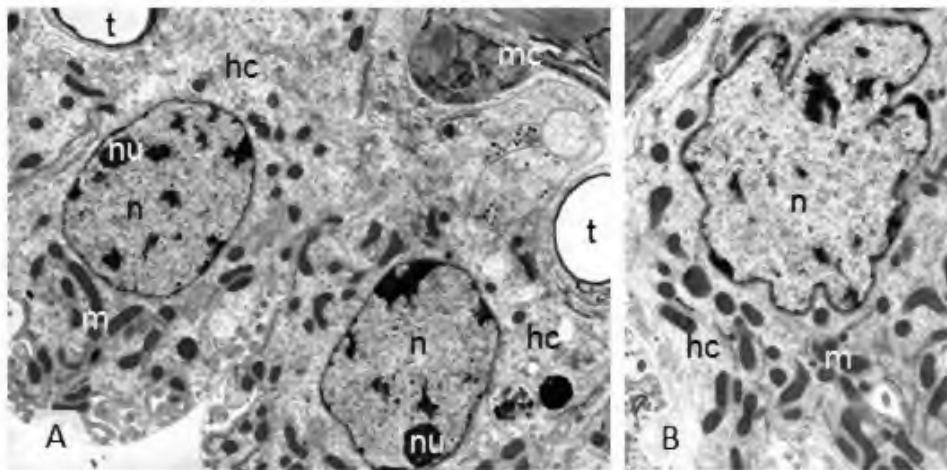
Fot. 55. Komórki otaczające jelito środkowe *Julus scandinavius*.

- A.** Lokalizacja komórek wątrobowych (**hc**) pod mięśniami wisceralnymi (**mc**) o przebiegu okrężnym (**czerwona** →) i pomiędzy mięśniami wisceralnymi o przebiegu podłużnym (**czarna** →). Błona podstawna (**bl**), nabłonek jelita środkowego (**e**). TEM, pow. x 7 200.
- B.** Komórki wątrobowe (**hc**) sąsiadujące z komórkami nerwowymi (➤) i tchawkami (**t**). Błona podstawna (**bl**), mięśnie wisceralne (**mc**), nabłonek jelita środkowego (**e**). TEM, pow. x 7 100.
- C.** Wypustka cytoplazmatyczna (★) komórki wątrobowej (**hc**) występująca pomiędzy mięśniami wisceralnymi (**mc**). Błona podstawna (**bl**), komórka nerwowa (➤), nabłonek jelita środkowego (**e**). TEM, pow. x 6 100.



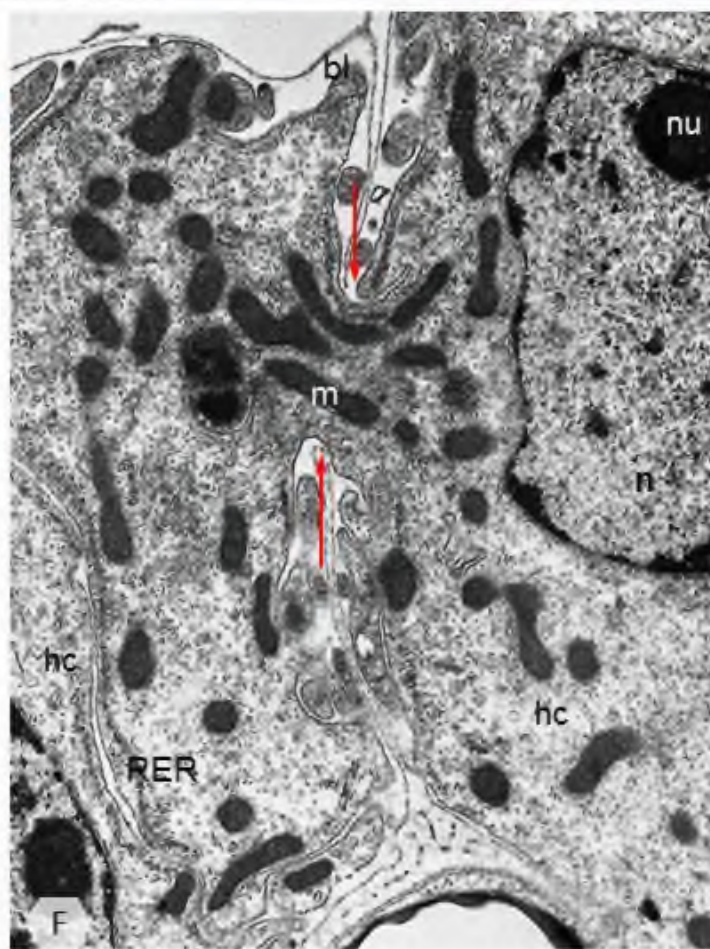
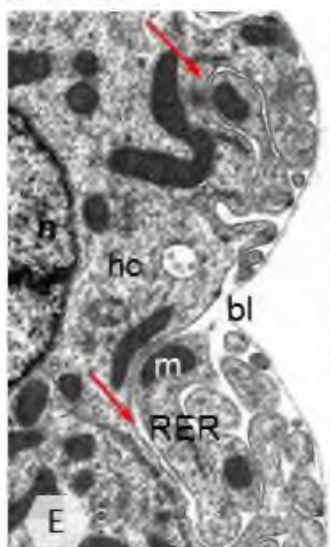
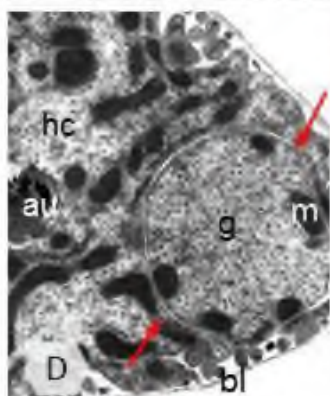
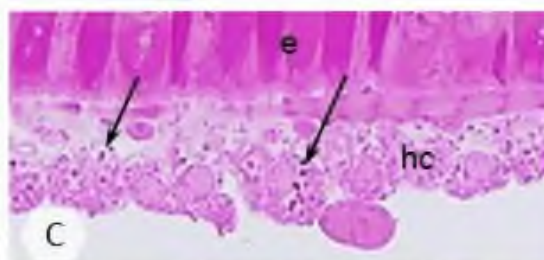
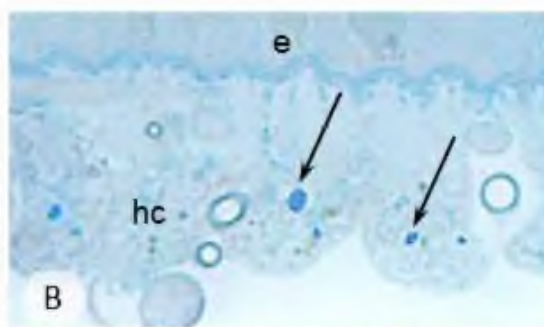
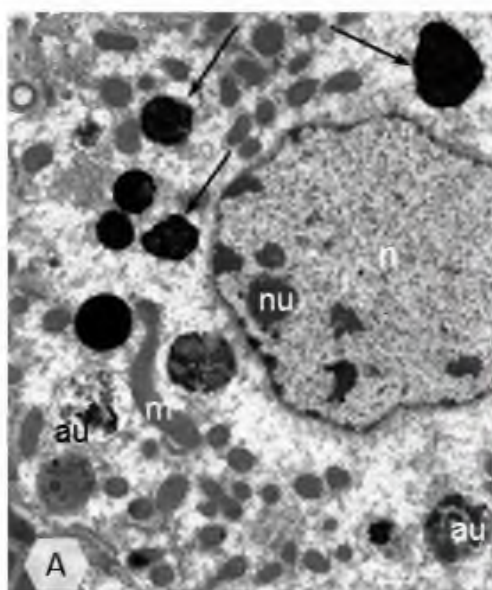
Fot. 56. Ultrastruktura komórek wątrobowych *Julus scandinavus*.

- A.** Ovalne jądra komórkowe (**n**) umiejscowione centralnie w ciele komórek wątrobowych (**hc**). Jąderko (**nu**), mięśnie wisceralne (**mc**), mitochondria (**m**), tchawki (**t**). TEM, pow. x 7 150.
- B.** Jądro komórkowe (**n**) o nieregularnym, płatowatym kształcie w cytoplazmie komórki wątrobowej (**hc**). Mitochondria (**m**). TEM, pow. x 11 200.
- C.** Cytoplazma komórki wątrobowej (**hc**): autofagosomy (**au**), blaszka podstawna komórki wątrobowej (**bl**), ciało lamellarne (**lb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**), pęcherzyki (\rightarrow), ziarna glikogenu (**g**). TEM, pow. x 23 100.
- D.** Peryferyczny obszar cytoplazmy komórki wątrobowej (**hc**) z cysternami siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**) w pobliżu pofałdowanej błony komórkowej. Blaszka podstawna komórki wątrobowej (**bl**), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 20 600.
- E.** Mitochondria (**m**) otoczone cysternami siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (\rightarrow) w cytoplazmie komórki wątrobowej. Ziarna glikogenu (**g**). TEM, pow. x 23 500.



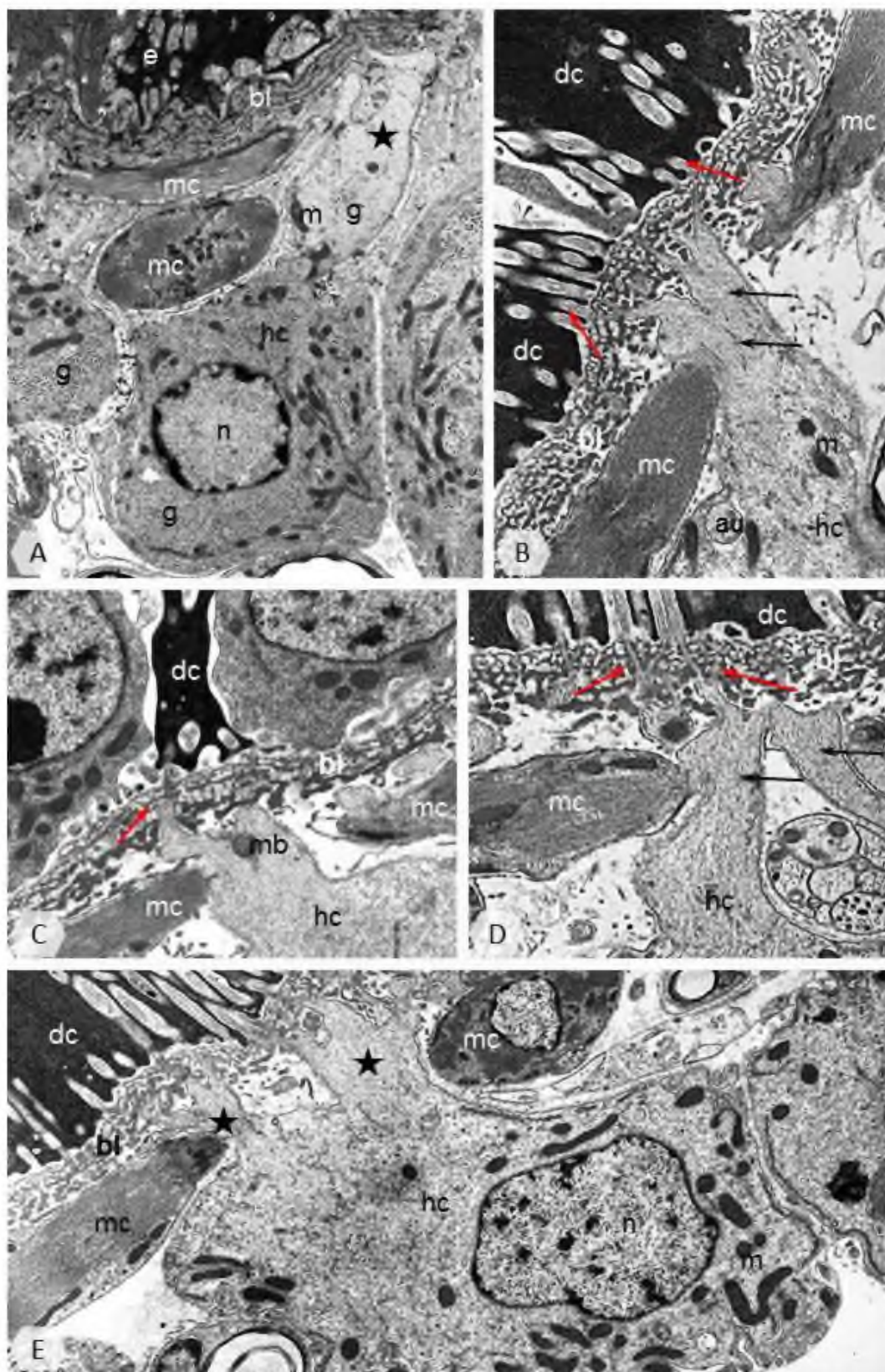
Fot. 57. Ultrastruktura komórek wątrobowych *Julus scandinavus*.

- A.** Elektronowo gęste granule (→) występujące w cytoplazmie komórki wątrobowej. Autofagosomy (**au**), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 8 850.
- B, C.** Histochemiczna analiza granul gromadzonych w komórkach wątrobowych (**hc**). Nabłonek jelita środkowego (**e**). LM; **B** – materiał zapasowy o charakterze białkowym (→) (*kolor niebieski*), barwienie błękitem rtęciowo-bromofenolowym, pow. x 2 100; **C** – materiał o charakterze polisacharydowym (→) (*kolor malinowo-czerwony*), reakcja PAS, pow. x 1 250.
- D-F.** Głębokie wpuklenia błony komórkowej (**czerwone** →) z występującymi pomiędzy nimi organellami komórkowymi. Błazna podstawna komórki wątrobowej (**bl**), komórka wątrobową (**hc**), mitochondria (**m**). TEM; **D** – autofagosom (**au**), ziarna glikogenu (**g**), pow. x 11 400; **E** – cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jądro komórkowe (**n**), pow. x 18 700; **F** – cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), jąderko (**nu**), jądro komórkowe (**n**), pow. x 19 700.



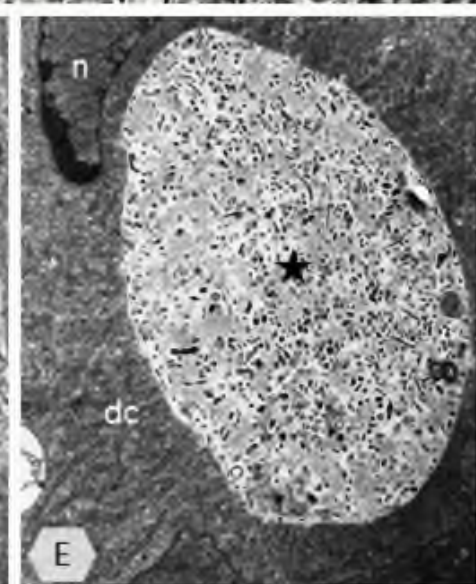
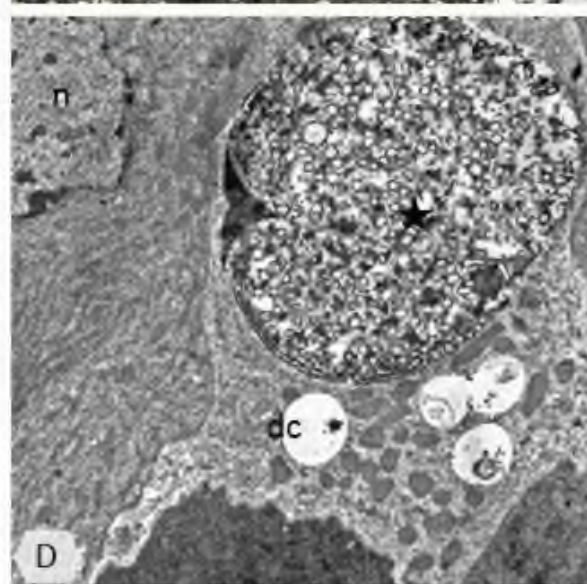
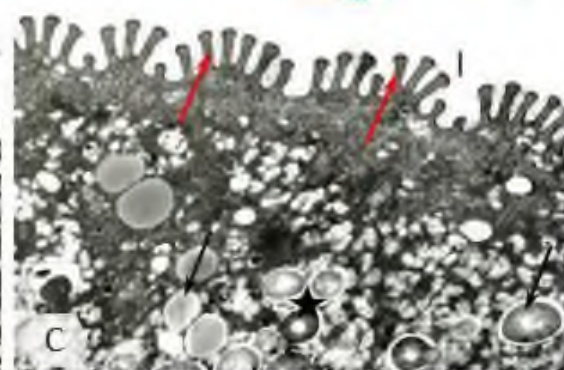
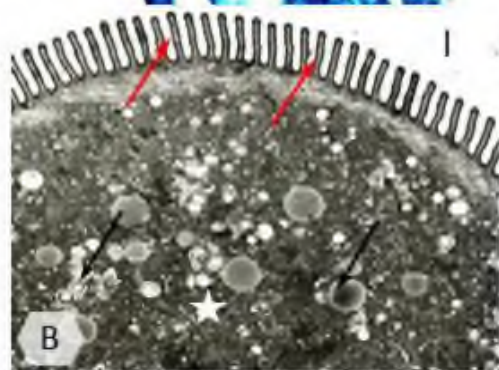
Fot. 58. Ultrastruktura komórek wątrobowych *Julus scandinavus*.

- A.** Długa wypustka cytoplazmatyczna (★) z ubogą w organelle komórkową cytoplazmą. Błona podstawna (**bl**), jądro komórkowe (**n**), mięśnie wisceralne (**mc**), mitochondria (**m**), nabłonek jelita środkowego (**e**), ziarna glikogenu (**g**). TEM, pow. x 6 950.
- B.** Kontakt wypustek jednej komórki wątrobowej (**czerwone** →) z różnymi komórkami trawiennymi (**dc**). Autofagosom (**au**), błona podstawna (**bl**), elementy cytoszkieletu (**czarne** →), komórka wątrobowa (**hc**), mięśnie wisceralne (**mc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 14 000.
- C, D.** Penetracja błony podstawnej (**bl**) przez końcowe uwypuklenia wypustek cytoplazmatycznych komórki wątrobowej (**czerwone** →). Komórka trawienna (**dc**), komórka wątrobowa (**hc**), mięśnie wisceralne (**mc**). TEM; **C** – ciało wielopęcherzykowe (**mb**), pow. x 15 900; **D** – elementy cytoszkieletu (**czarne** →), pow. x 18 400.
- E.** Komórka wątrobowa (**hc**) z dwoma wypustkami cytoplazmatycznymi (★) skierowanymi w stronę komórek trawiennych (**dc**). Błona podstawna (**bl**), jądro komórkowe (**n**), mięśnie wisceralne (**mc**), mitochondria (**m**). TEM, pow. x 11 800.



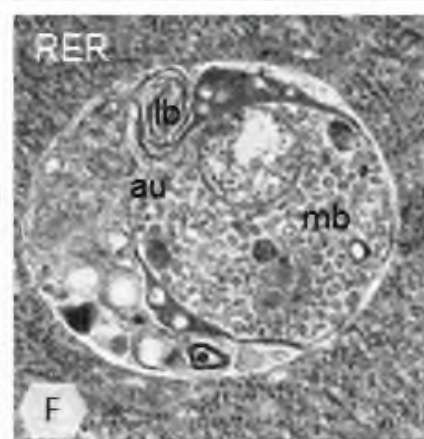
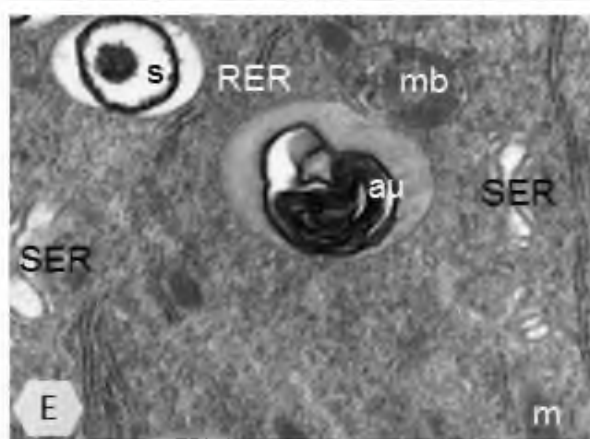
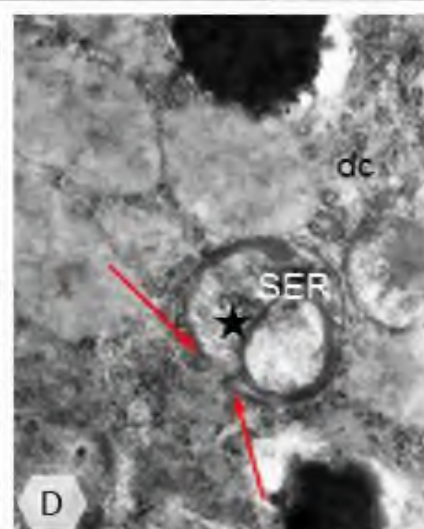
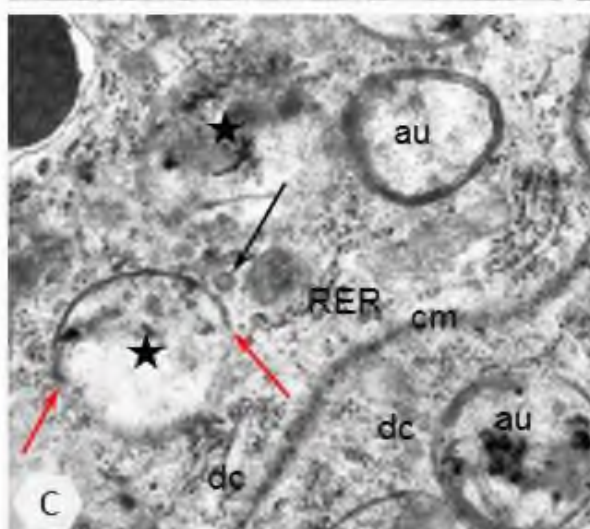
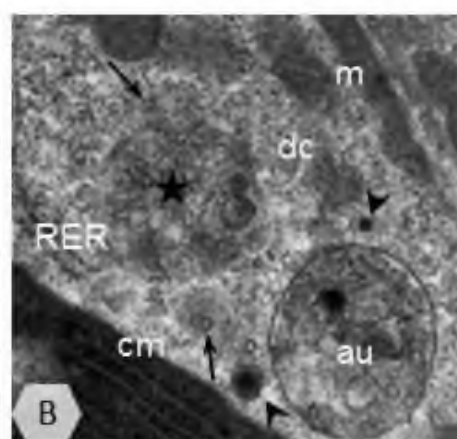
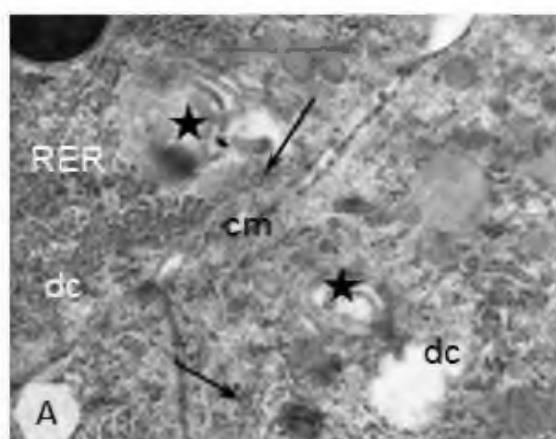
Fot. 59. Mikroorganizmy w jelicie środkowym *Julus scandinavius*.

- A.** Mikroorganizmy (★) w świetle jelita (**I**). LM, barwienie błękitem metylenowym, pow. x 1 950.
- B, C.** Granule materiału zapasowego (**czarne** →) i budowa pofałdowanej błony komórkowej (**czerwone** →) mikroorganizmu (★); cytoplazma korowa pozbawiona większości materiałów zapasowych. Światło jelita (**I**). TEM; **B** – pow. x 6 950; **C** – pow. x 8 900.
- D, E.** Formy życiowe mikroorganizmów (★) na terenie nabłonka jelita środkowego. Komórka trawienna (**dc**), jądro komórkowe (**n**). TEM, **D** – pow. x 9 650; **E** – pow. x 10 800.



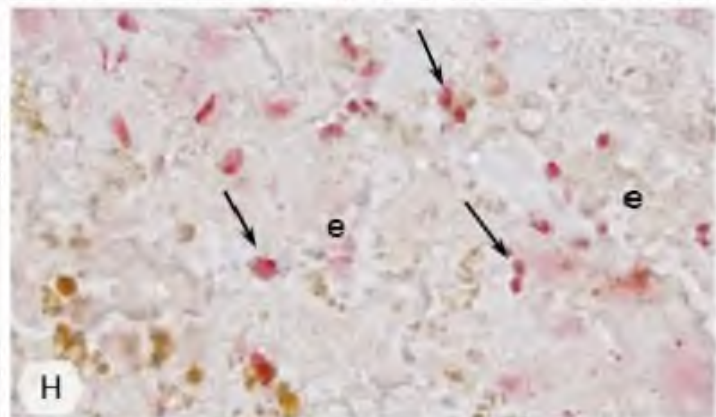
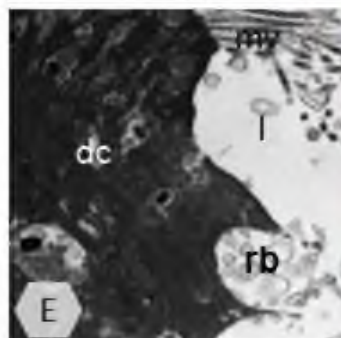
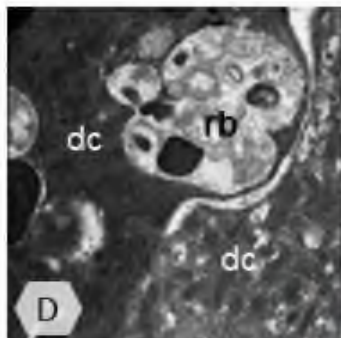
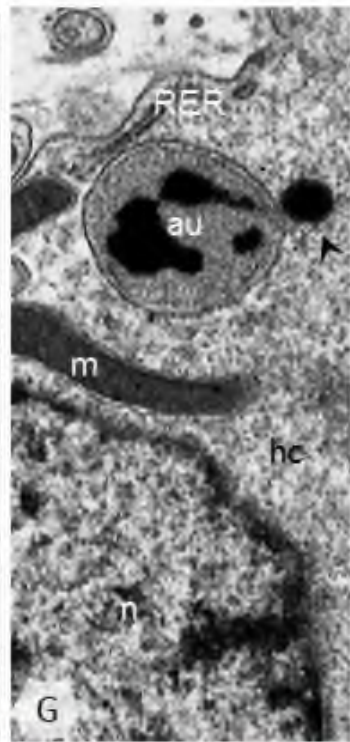
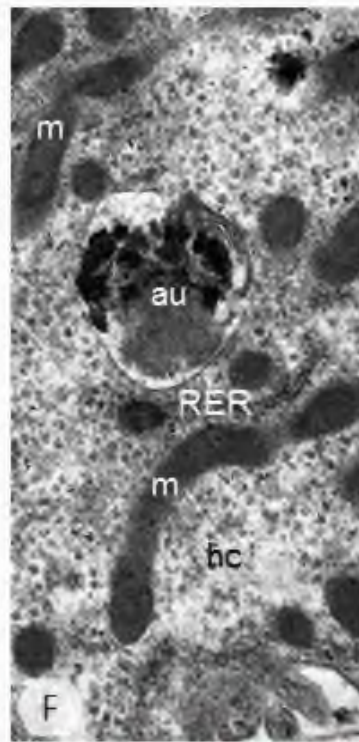
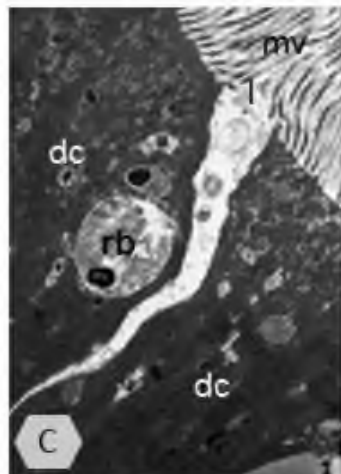
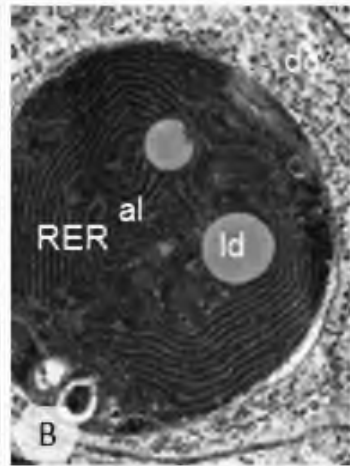
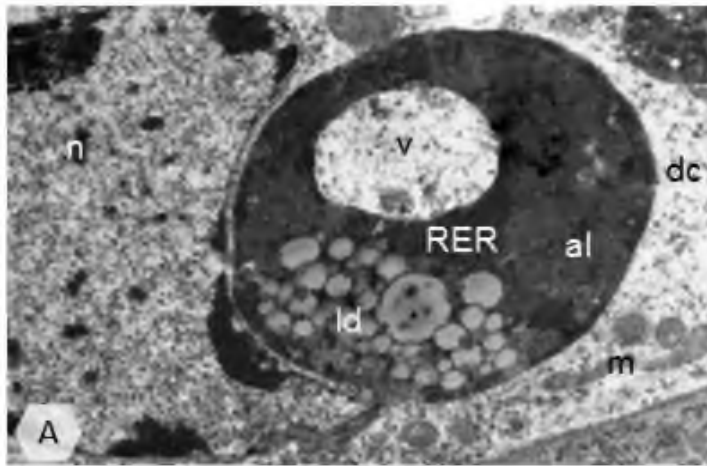
Fot. 60. Proces autofagii w jelicie środkowym *Julus scandinavus*.

- A, B.** Zmienione organelle komórkowe (★) w peryferycznych częściach cytoplazmy komórek trawiennych (**dc**). Błona komórkowa (**cm**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), pęcherzyki (→). TEM; **A** – pow. x 38 400; **B** – autofagosom (**au**), lizosomy (➤), mitochondria (**m**), pow. x 43 000.
- C, D.** Wydłużające się błony fagoforu (**czerwona** →) otaczające cytoplazmę wraz z degenerującymi organellami komórkowymi (★). Komórka trawienna (**dc**). TEM; **C** – autofagosom (**au**), błona komórkowa (**cm**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), pow. x 41 700; **D** – cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), pow. x 25 300.
- E, F.** Autofagosomy (**au**) na terenie cytoplazmy komórek trawiennych. Ciało wielopęcherzykowe (**mb**), cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**). TEM; **E** – cysterny siateczki śródplazmatycznej gładkiej (**SER**), mitochondria (**m**), sferyty (**s**), pow. x 25 800; **F** – ciało lamellarne (**lb**), pow. x 33 800.



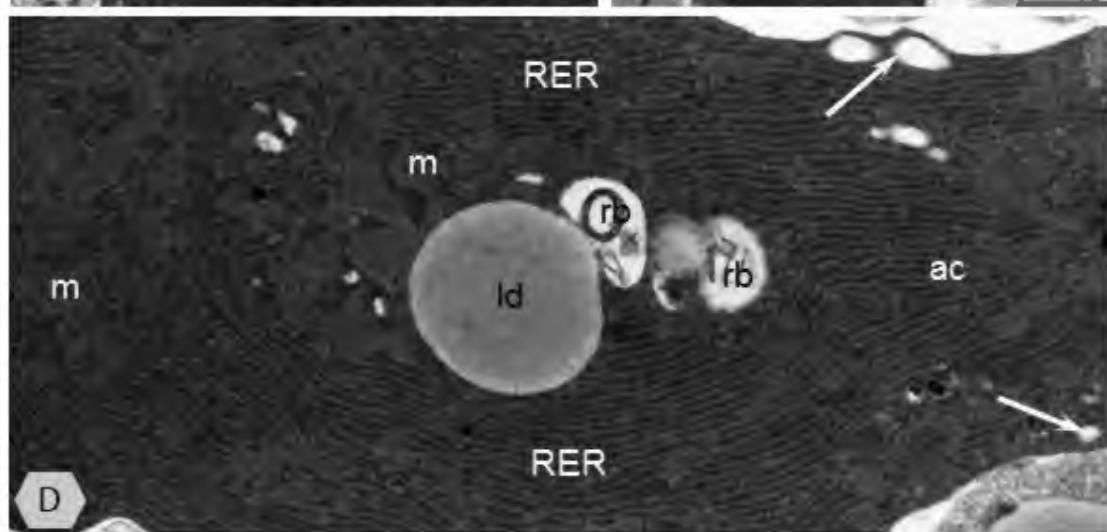
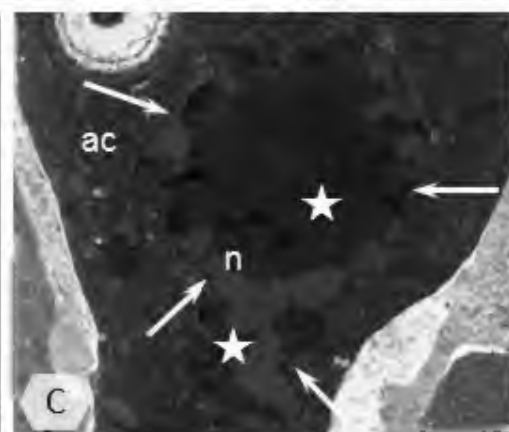
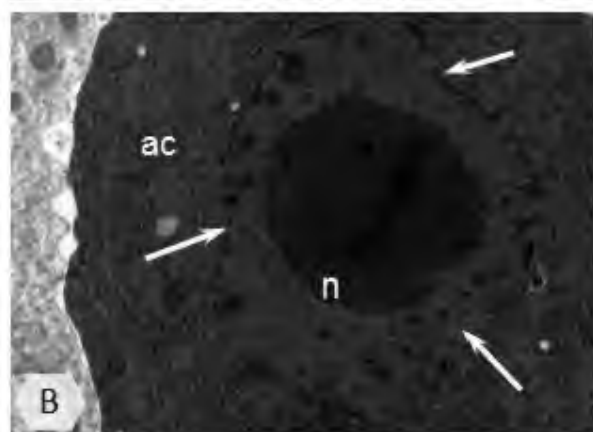
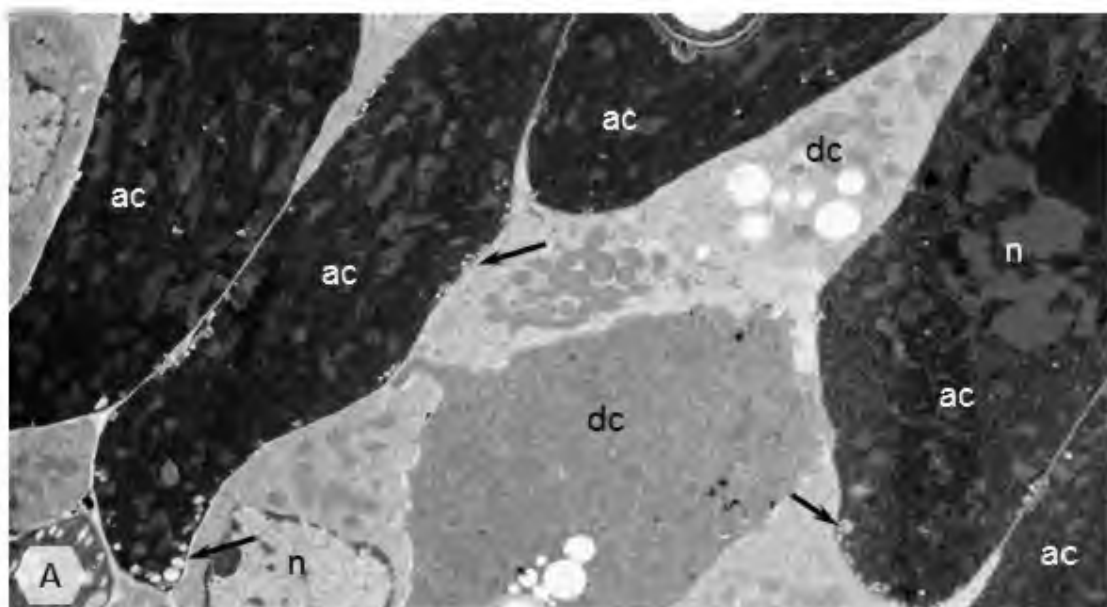
Fot. 61. Proces autofagii w jelicie środkowym *Julus scandinavus*.

- A, B.** Autolizosomy (**al**) z elektronowo gęstym wnętrzem w komórkach trawiennych (**dc**). Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), krople lipidowe (**ld**). TEM; **A** – jądro komórkowe (**n**), mitochondria (**m**), wakuola (**v**), pow. x 15 900; **B** – pow. x 21 300.
- C-E.** Proces usuwania zawartości ciała resztkowego (**rb**) przez błonę komórkową w komórce trawiennej (**dc**). TEM, **C** – mikrokosmki (**mv**), światło jelita (**I**), pow. x 18 000; **D** – pow. x 18 500; **E** – mikrokosmki (**mv**), światło jelita (**I**), pow. x 18 200.
- F, G.** Autofagosomy (**au**) w komórkach wątrobowych (**hc**) zawierające elektronowo gęsty materiał. Cysterny siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**), mitochondria (**m**). TEM, **F** – pow. x 26 500; **G** – jądro komórkowe (**n**), lizosom (➤), pow. x 38 300.
- H.** Pozytywny wynik reakcji (→) wykrywającej aktywność fosfatazy kwaśnej (*kolor różowoczerwony*) na terenie nabłonka jelita środkowego (**e**). LM, pow. x 1 100.



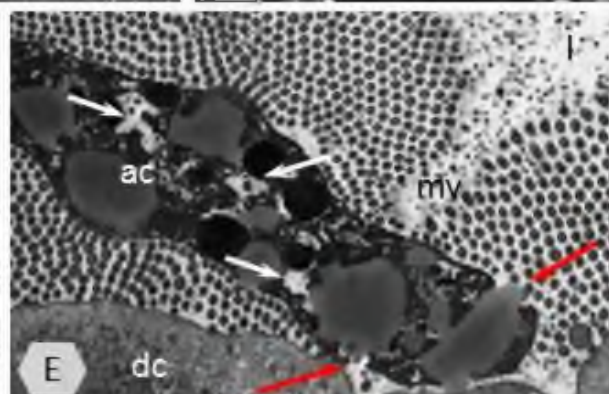
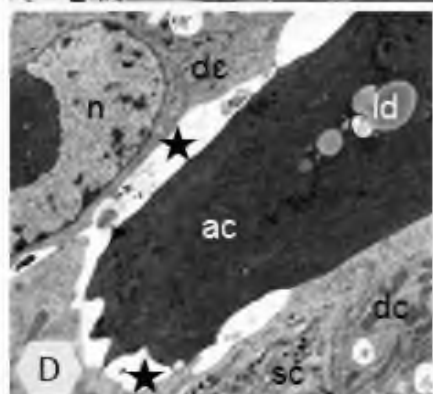
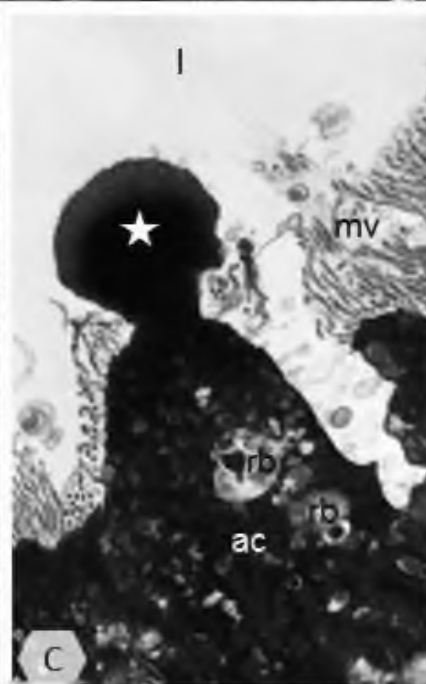
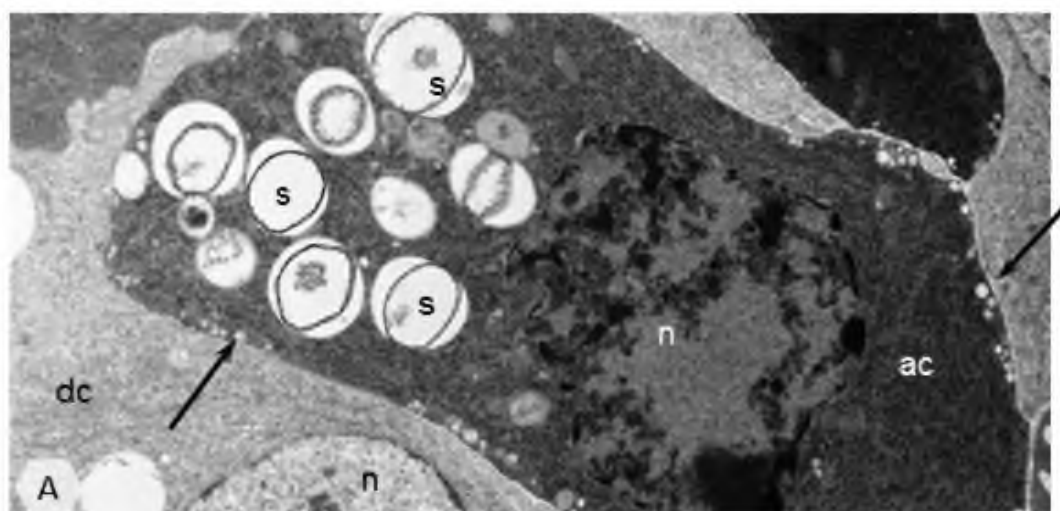
Fot. 62. Proces apoptozy w jelicie środkowym *Julus scandinavius*.

- A.** Apoptoza całych grup komórek trawiennych w nabłonku jelita środkowego. Jądro komórkowe (**n**), komórki apoptotyczne (**ac**), komórki trawienne (**dc**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (\rightarrow). TEM, pow. x 8 300.
- B, C.** Stopniowa transformacja jądra komórkowego (**n**) podczas zachodzącego procesu apoptozy, obkurczanie komórki skutkujące zagęszczeniem nukleoplazmy, kondensacją heterochromatyny (**★**) i zmianą kształtu jądra komórkowego (\rightarrow). Komórka apoptotyczna (**ac**). TEM, **B** – pow. x 15 400; **C** – pow. x 12 100.
- D.** Ultrastruktura komórki apoptotycznej (**ac**) z widocznym zagęszczeniem organelli komórkowych: nabrzmieniem siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**) i utratą grzebieni przez mitochondria (**m**). Ciała reszkowe (**rb**), krople lipidowe (**ld**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (\rightarrow). TEM, pow. x 20 700.

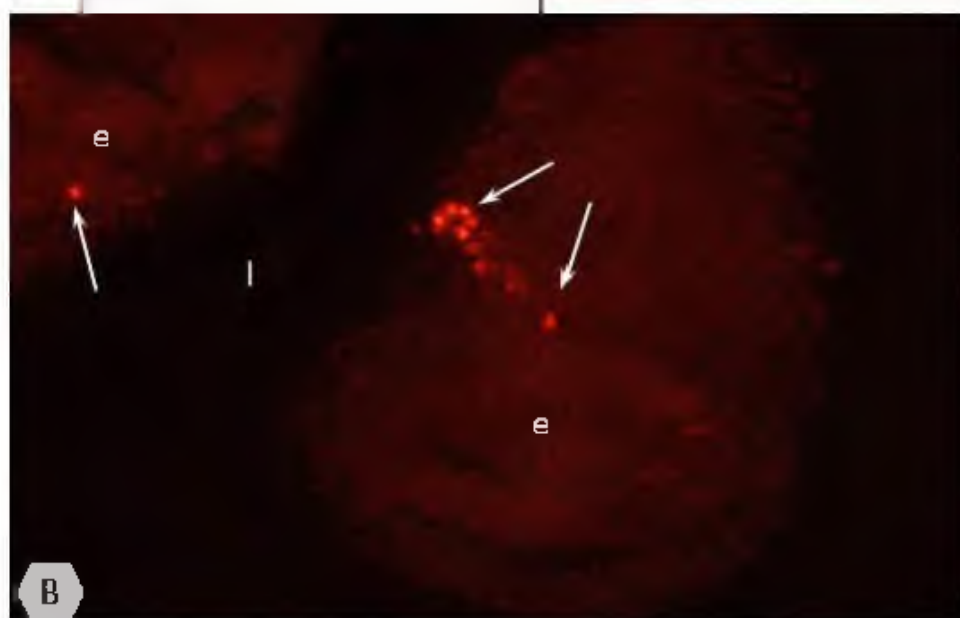
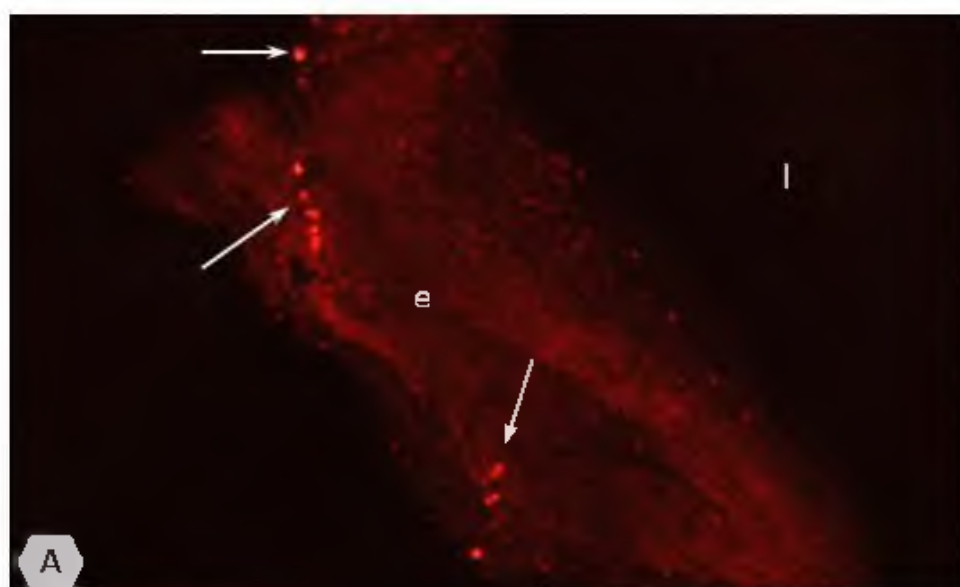


Fot. 63. Proces apoptozy w jelicie środkowym *Julus scandinavius*.

- A.** Liczne sferyty (**s**) zgromadzone w regionie okołojądrowym komórki apoptotycznej (**ac**). Jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (\rightarrow). TEM, pow. x 14 200.
- B.** Zmiana kształtu komórek apoptotycznych (**ac**) na terenie nabłonka jelita środkowego. Jądro komórkowe (**n**), komórka regeneracyjna (**rc**), komórka trawienna (**dc**), krople lipidowe (**ld**), pęcherzyki o elektronowo jasnym wnętrzu (\rightarrow). TEM, pow. x 5 300.
- C.** Fragmentacja komórki apoptotycznej (**ac**) w świetle jelita (**I**) poprzez tworzenie pączków apoptotycznych (\star). Ciało resztkowe (**rb**), mikrokosmki (**mv**). TEM, pow. x 13 100.
- D.** Utrata kontaktu komórki apoptotycznej (**ac**) z sąsiednimi komórkami nabłonka jelita środkowego, wskutek powstawania przestrzeni międzykomórkowych (\star). Jądro komórkowe (**n**), komórka trawienna (**dc**), komórka wydzielnicza (**sc**), krople lipidowe (**ld**). TEM, pow. x 8 350.
- E.** Nekroza wtórna komórki apoptotycznej (**ac**) w świetle jelita (**I**), przejawiająca się wakuolizacją cytoplazmy (**białe** \rightarrow) i utratą ciągłości błony komórkowej (**czerwone** \rightarrow). Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**). TEM, pow. x 12 500.



Fot. 64A, B. Lokalizacja komórek apoptotycznych (→) w nabłonku jelita środkowego (e) *Julus scandinavicus*. Światło jelita (I), jądra komórek apoptotycznych (**kolor czerwony**). FM, reakcja TUNEL, **A** – pow. x 280; **B** – pow. x 290.



Fot. 65. Proces nekrozy w jelicie środkowym *Julus scandinavius*.

- A.** Komórka nekrotyczna (**nc**) w początkowym stadium nekrozy z rozdętymi mitochondriami (**m**), cysternami siateczki śródplazmatycznej szorstkiej (**RER**) i gładkiej (**SER**) oraz licznymi pęcherzykami (\rightarrow). Jądro komórkowe (**n**). TEM, pow. x 11 500.
- B-D.** Degradacja większości organelli komórkowych w silnie elektronowo jasnej cytoplazmie komórki nekrotycznej (**nc**). Komórka trawienna (**dc**). TEM; **B** – pow. x 17 700; **C** – granule (**g**), pow. x 7 700; **D** – jądro komórkowe (**n**), wakuole powstające w cytoplazmie (\rightarrow), pow. x 8 400.
- E, F.** Utrata ciągłości błony komórkowej komórki nekrotycznej (**nc**) i usunięcie pozostałości po zdegradowanych strukturach komórkowych wraz z cytoplazmą do światła jelita (**I**). Komórka trawienna (**dc**), mikrokosmki (**mv**). TEM, **E** – pow. x 7 450, **F** – pow. x 7 800.

